



Hinc patriam sustinet

Instituto Superior de Agronomia
Universidade Técnica de Lisboa

EFEITOS DA APLICAÇÃO DE CALOR E DA RADIAÇÃO UV-C NA QUALIDADE DE POLPAS REFRIGERADAS DE HORTOFRUTÍCOLAS

Catarina Gomes da Silva

Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Alimentar – Qualidade e Segurança Alimentar

Orientadora: Doutora Marta Maria Moniz Nogueira Abreu

Co-Orientador: Doutor João Augusto Marques de Almeida

Co-Orientadora (ISA): Doutora Margarida Moldão Martins

Júri:

Presidente: Doutor Vítor Manuel Delgado Alves, Professor Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.

Vogais: Doutora Margarida Gomes Moldão Martins, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutora Sara Maria Martins Beirão da Costa Teixeira de Barros, Professora Auxiliar Convidada do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutora Marta Maria Moniz Nogueira de Abreu, Investigadora Auxiliar do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.;

Doutora Elsa Margarida Nunes Leal Gonçalves, Investigador Auxiliar do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.

Lisboa, 2012

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todos aqueles que de alguma forma tornaram possível a realização deste trabalho:

Ao Doutor Carlos Santos, Director do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, agradeço a oportunidade que me concedeu para a realização deste trabalho, bem como disponibilização dos meios, materiais e humanos, necessários.

Gostaria de expressar um especial agradecimento, à minha orientadora Doutora Marta Abreu, pela sua incansável orientação, incentivo, dedicação e disponibilidade, pelas suas preciosas correcções e sugestões, sempre com a sua contagiante alegria e boa disposição

Ao Doutor João Almeida, pela orientação, pelo apoio e colaboração nos ensaios tecnológicos, visão critica e sentido prático transmitido durante todo o trabalho.

À Professora Doutora Margarida Moldão-Martins, pela sua orientação, pela sugestão do tema, pelas suas correcções, disponibilidade e apoio prestado.

À Eng.^a Carla Alegria, pelo apoio e constante disponibilidade prestado a nível de laboratorial, e ensaios tecnológicos. Pela sua preciosa ajuda no esclarecimento de dúvidas, sugestões, correcções, bem como partilha de conhecimento ao longo de todo este trabalho. Pela simpatia, amizade e pelo enorme apoio e interesse demonstrado durante a realização deste trabalho, o meu profundo agradecimento.

À Andreia Noa e Tânia Figueiredo, agradeço a colaboração, o companheirismo, a amizade, e principalmente a constante força e ajuda prestada em todas as etapas deste trabalho. Agradeço o bom ambiente de trabalho, convívio, as boas discussões e, a alegria que todos os dias se instalava.

À Doutora Elsa Gonçalves, pela pronta disponibilidade, bem como o seu sentido prático e boa disposição.

À empresa CAMPOTEC por ter facultado as matérias-primas necessárias à realização deste trabalho.

Às técnicas da Unidade de Microbiologia Alimentar UITA, Maria do Carmo Paulo, Ana Maria Magalhães, em particular à responsável da unidade, Dra. Manuela Sol, pela colaboração na realização das análises microbiológicas.

À responsável da Unidade de Química Alimentar, Ana Partidário, e às técnicas Maria Luísa Oliveira, Gracinda Manuel e Cristina Serrano pela colaboração e realização da análise centesimal

A todos os participantes do painel sensorial, pelo valioso contributo para este trabalho.

Devo também agradecer a todos os meus amigos, deste instituto e fora dele, que me acompanharam e apoiaram desde do início do meu percurso académico, pela amizade e companheirismo, tornaram esta experiência única e enriquecedora. Em especial à Lilian Silva, pela amizade de longa data, pela cumplicidade, apoio e paciência demonstrada ao longo destes anos.

Aos meus pais, a quem tudo devo, uma palavra de reconhecimento muito especial pelo amor incondicional, pela liberdade de escolha que sempre me concederam, pelo incentivo e compreensão demonstrados, nos bons e maus momentos. Não existem palavras que possam expressar o meu agradecimento.

Ao meu irmão pelos conselhos, pela compreensão e claro por estar sempre presente.

Ao meu sobrinho, pelo sorriso, carinho e pelos momentos de descontração e alegria.

Ao Miguel, ouvinte atento de algumas dúvidas, inquietações, desânimos e sucessos, pelo apoio e paciência, pela confiança e sobretudo pelo carinho, amor e amizade revelados ao longo destes anos.

A todos os que não foram mencionados, com a certeza de que não foram esquecidos, o meu

MUITO OBRIGADA

RESUMO

As condições de pasteurização de polpas de hortofrutícolas, otimizadas por metodologia de superfície de resposta, mostraram ser dependentes das formulações testadas: P__Amarela [Pêra Rocha (50%): Ananás (50%)] e P__Vermelha [Pêra Rocha (66%) Morango (30%), Beterraba (4%): Sumo de Limão (1.5%)], para os binómios 95 °C/10min e 90 °C/10min, respectivamente. No pós-processamento as polpas pasteurizadas evidenciaram níveis de descontaminação (> 2 ciclos Log para mesófilos totais) e de inativação da POD, significativos, sem alteração da cor, pH e dos teores em sólidos solúveis e compostos fenólicos totais. Nas polpas pasteurizadas P__Amarela e P__Vermelha, os níveis de descontaminação (\cong 4 ciclos Log) e de inativação da POD alcançados, bem como os níveis de aceitação sensorial validaram as condições otimizadas. Os resultados do teor em sólidos solúveis, de pH, do índice de consistência e da cor das polpas não sofreram variações ($p < 0.05$) durante 30 dias (5 °C), independentemente da formulação. O teor fenólico total na P__Amarela manteve os registos iniciais enquanto a P__Vermelha denotou uma diminuição até ao 7º dia (cerca de metade) sem quaisquer variações adicionais. Na avaliação da radiação UV-C, as doses testadas, a variar de 0,5 a 16 kJ/m², não promoveram os efeitos esperados de descontaminação microbiana e/ou de inativação enzimática (POD).

Palavras- Chave: Polpas de Hortofrutícolas, Pasteurização por calor, Pasteurização por UV-C, Refrigeração, Armazenagem.

ABSTRACT

Pasteurization conditions, optimized by response surface methodology, were dependent upon the tested formulations: P__{Amarela} [Rocha pear (50%): Pineapple (50%)] e P__{Vermelha} [Rocha pear (66%) Strawberry (30%), Beetroot (4%): Lemon juice (1.5%)], for the time-temperature binomials of 95 °C/10min and 90 °C/10min, respectively. After processing, pasteurized pulps showed significant levels of reduction of mesophilic load (> 2 Log cycles) as well as POD inactivation (>99%) without causing changes in colour, pH, soluble solids content and phenolic content. These results were validated for P__{Amarela} and P__{Vermelha}, where again high decontamination levels (4 Log cycles) and POD inactivation, were achieved gathered with high sensorial acceptance. The levels of soluble solids content, pH, consistency index and pulp colour did not significantly change during 30 days (5 °C), irrespective of evaluated formulation. Maintenance in total phenolic content was observed in P__{Amarela} throughout storage while P__{Vermelha} showed a decrease for the initial 7 days to about half the initial content, maintaining these levels till the end of storage (p>0.05). The tested doses of UV-C radiation, from 0.5 to 16 kJ/m², did not promote the expected decontamination effects and/or of enzymatic inhibition (POD).

Keywords: Fruit and vegetables pulps, heat pasteurization, UV-C pasteurization, Refrigeration, Storage.

EXTENDED ABSTRACT

Fruit and vegetable (F&V) pulps are processed food products with high nutritional and functional quality prepared from the edible fractions of F&V through adequate technological processes and preserved at low temperature. However, the fresh-like quality of these products is rapidly loss due to enzymatic oxidation and excessive microbial growth. Pasteurization by heat or UV-C are now explored for the production of F&V pulps since they present a sustainable technological alternative to achieve microbial and enzymatic inactivation without further use of synthetic additives.

The effects of pasteurization by heat in two pulp formulations (P_{Amarela}: Rocha pear (50%) and Pineapple (50%) and e P_{Vermelha}: Rocha pear (66%), Strawberry (30%), Beetroot (4%) and lemon juice (1.5%)), were evaluated just after processing by response surface methodology. The independent variables were treatment *time* (Δt : 30 s-13 min) and *temperature* (ΔT : 75°-95 °C), and the dependent variables the microbial reduction, peroxidase inhibition (POD), soluble solids content (SSC), pH, total phenolic content (TPC) and CIELab colour. From the obtained mathematical models it was possible to identify the time-temperature binomials which promoted suitable reductions in initial microbial load and in POD activity while maintaining the physical-chemical and sensorial attributes of the pulps. According to the models, the pasteurization optimal conditions showed to be dependent on the formulations. The optimized binomials were of 95 °C/10 min and 90 °C/10 min for the P_{Amarela} e P_{Vermelha}, respectively. These binomials allowed to achieve a significant microbial reduction (>2 Log cycles) and ca. 100% POD inhibition ($p < 0.05$), with maintenance of the physical-chemical attributes (SSC, pH, TPC and colour) and of the sensorial characteristics in respect to unpasteurized pulps just after processing.

The use of UV-C radiation for pasteurization purposes was assessed by applying different doses (0.5 to 16 kJ/m²) and evaluating the respective effects on the microbial reduction, POD inhibition and physical-chemical attributes (SSC, pH, TPC and colour). Independently of the applied dose, UV-C pasteurization proved to be insufficient to fulfill the decontamination and enzymatic inactivation objectives. Nonetheless, this technology proved to maintain pulps initial physical-chemical attributes and sensorial properties.

The effects of the optimized thermal binomials on pulps quality during storage (30 days, 5 °C) were evaluated and the results compared to unpasteurized pulps. Independently of formulation and just after processing (day 0), the pasteurized pulps did not revealed any change in the evaluated attributes in regard to unpasteurized ones. Generally, maintenance of the studied attributes was observed during storage of both pulps where the high sensory acceptance is noteworthy. However, in regard to TPC, differences in behavior were found between formulations: Despite the difference in contents ($p < 0.05$), both pasteurized and

unpasteurized P_{Amarela} showed a significant increase to day 15 followed by maintenance in TPC level to the end of storage; P_{Vermelha} showed a decrease ($p < 0.05$) in TPC values up to day 7 (ca. 50% reduction) with maintenance throughout storage also irrespective of pasteurization ($p > 0.05$).

The estimated shelf-life for both pulps at 5 °C, considering the simultaneous verification of the set criteria, significant microbial and enzymatic reduction and maintenance of physical-chemical and sensory attributes, was of at least 30 days in comparison to untreated pulps. Although more studies concerning process up-scale and shelf-life extension, the validation of the optimized pasteurization binomials constitutes an important progress toward the technological implementation for F&V pulp production without the use of synthetic additives.

Keywords: Fruit and vegetables pulps, heat pasteurization, UV-C pasteurization, Refrigeration, Storage.

ÍNDICE GERAL

Agradecimentos	ii
Resumo.....	iv
Abstract.....	v
Extended Abstract	vi
ÍNDICE GERAL.....	viii
Índice de Figuras.....	x
Índice de Tabelas	xii
Lista de Abreviaturas.....	xiii
Capítulo I – Enquadramento Teórico	1
1 INTRODUÇÃO	1
2 COMPOSIÇÃO BIOACTIVA DOS HORTOFRUTÍCOLAS	2
3 POLPAS DE HORTOFRUTÍCOLAS.....	3
3.1 Processamento Industrial.....	5
3.2 Alterações de Qualidade	6
3.2.1 Origem enzimática	6
3.2.2 Origem microbiológica.....	7
3.3 Sistemas de Conservação.....	9
3.3.1 Pasteurização	9
3.3.2 Radiação UV-C	11
3.3.3 Refrigeração	13
Capítulo II – Desenvolvimento Experimental	15
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	15
4.1 Matérias-primas	15
4.2 Procedimentos tecnológicos.....	15
4.2.1 Preparação das polpas	15
4.2.2 Pasteurização pelo calor	17
4.2.3 Pasteurização por irradiação UV-C	17
4.3 Métodos analíticos	19
4.3.1 Cor CIE Lab	19
4.3.2 Viscosidade.....	21
4.3.3 pH.....	21
4.3.4 Teor de Sólidos Solúveis.....	21
4.3.5 Conteúdo Fenólico Total	22
4.3.6 Actividade da enzima peroxidase	22
4.3.7 Contagem de Microrganismos a 30 °C.....	23
4.3.8 Avaliação sensorial	23

4.3.9	Análise centesimal	23
4.4	Tratamento Estatístico	23
4.4.1	Metodologia de superfícies de resposta (RSM)	23
4.4.2	ANOVA	24
5	OPTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE PASTEURIZAÇÃO POR TRATAMENTOS TÉRMICOS E RADIAÇÃO UV.....	25
5.1	Optimização do binómio t/T	25
5.1.1	Delineamento experimental.....	25
5.1.2	Resultados e discussão	26
5.1.3	Conclusão intercalar	36
5.2	ESTUDO DAS CONDIÇÕES DE PASTEURIZAÇÃO POR UV-C.....	36
5.2.1	Delineamento experimental.....	36
5.2.2	Resultados e discussão	36
5.2.3	Conclusão intercalar	40
5.3	Avaliação da estabilidade das polpas pasteurizadas durante a armazenagem (5 °C) 41	
5.3.1	Delineamento Experimental	41
5.3.2	Resultados e discussão	42
5.3.3	Conclusão intercalar	51
6	Composição centesimal das polpas Amarela e Vermelha	51
	Capítulo III – Conclusões	53
	Bibliografia	55
	Anexos	I
	Anexo 1 – Ficha de prova de Análise Sensorial utilizada no ponto.....	II
	Anexo 2 – Resultados do ensaio de optimização do Binómio T/t (ponto 5.1).....	III

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Diagrama tecnológico geral de processamento de polpas de frutos.	5
Figura 2 – Diagrama de processamento das polpas de HF considerando as tecnologias alternativas em estudo	16
Figura 3 – Área de irradiação das amostras.	18
Figura 4 – Dose de radiação UV em função do tempo e da temperatura (5°, 15° e 25° C) de exposição	18
Figura 5 – Tonalidade de cor correspondente ao ângulo °h (0 – 360°).	20
Figura 6 – Superfície de resposta para o parâmetro TCD (projecção no ponto central (85 °C a 387 s))	27
Figura 7 – Superfície de resposta para a inibição da peroxidase (%) (projecção no ponto central (85 °C a 387 segundos))	28
Figura 8 – Superfície de resposta para o parâmetro redução contagem de microrganismos 30 °C, projectadas no ponto central (85 °C a 387 s)	29
Figura 9 – Superfície de resposta para o parâmetro TCD, projectadas no ponto central (85 °C a 387 s)	32
Figura 10 – Superfície de resposta para o parâmetro redução da actividade da peroxidase (%), projectadas no ponto central (85 °C a 387 s).	33
Figura 11 – Representação da superfície de resposta para o parâmetro redução da contagem de microrganismos a 30 °C, projectadas no ponto central (85 °C a 387 s).	34
Figura 12 – Contagens de Micro 30 °C avaliados nas amostras de P _{Ver} submetidas a diferentes doses de UV-C e na amostra controlo (não irradiada). Valores médios com letras iguais não apresentam diferenças significativas a 0,95.	37
Figura 13 – Valores médios de pH (a), teor de sólidos solúveis (b) e conteúdo fenólico total (c), avaliados nas amostras de P _{Ver} submetidas a diferentes doses de UV-C e na amostra controlo (não irradiada). Valores médios com letras iguais não apresentam diferenças significativas a 0,95.	38
Figura 14 – Valores médios de actividade da POD nas amostras irradiadas de P _{Ver} , e, na amostra controlo (não irradiada). Letras iguais não representam diferenças significativas a 0,95.	38
Figura 15 – Valores médios do índice de escurecimento WI (a), tonalidade h° (b), e Croma C* (c) avaliados nas amostras de P _{Ver} submetidas a diferentes doses de radiação UV-C e na amostra não irradiada. Valores médios com letras iguais não apresentam diferenças significativas a 0.95.	40
Figura 16 – Evolução do valor médio de pH ao longo da armazenagem (5 °C) nas amostras P _{Am} (a) P _{Ver} (b), não pasteurizadas (NP) e pasteurizadas (P). Bandas de variação correspondem aos intervalos de confiança 95%.	42

Figura 17 – Evolução dos CFT ao longo da armazenagem (5 °C) nas amostras P_Am_(a) P_Verm_(b), não pasteurizadas (NP) e pasteurizadas (P). Bandas de variação correspondem aos intervalos de confiança 95%.....	44
Figura 18 – Valores médios de actividade de POD (unidades) ao longo armazenagem (5 °C) nas amostras P_Am_(a) P_Verm_(b), não pasteurizadas e pasteurizadas. Bandas de variação correspondem aos intervalos de confiança 95%.	45
Figura 19 – Parâmetro °Hue ao longo da armazenagem (5 °C) nas amostras P_Am_(a) P_Verm_(b), não pasteurizadas e pasteurizadas. Bandas de variação correspondem aos intervalos de confiança 95%.....	46
Figura 20 – Contagens de microrganismos aeróbios a 30 °C (Micro 30 °C) efectuados ao longo da armazenagem (5 °C) das polpas P_Am_(a) P_Verm_(b), não pasteurizadas e pasteurizadas. Bandas de variação correspondem aos intervalos de confiança 95%.....	49

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação do nível de esbranquiçamento.	20
Tabela 2 – Classificação do grau de diferenças pelo valor de TCD	21
Tabela 3 – Normas utilizadas para cada parâmetro da análise centesimal realizada.	23
Tabela 4 – Matriz codificada e decodificada para a avaliação dos efeitos da pasteurização	25
Tabela 5 – Registo fotográfico da amostra não pasteurizada (<i>NP</i>) e das amostras pasteurizadas, com os respectivos binómios temperatura-tempo para a polpa <i>P_Ama</i>	30
Tabela 6 – Registo fotográfico da amostra não pasteurizada (<i>NP</i>) e das amostras pasteurizadas, com os respectivos binómios temperatura-tempo para a polpa <i>P_Verm</i>	35
Tabela 7 – Diferenças totais de cor (TCD) para as amostras de <i>P_Verm</i> pasteurizadas por radiação UV-C tendo como condição referência a amostra controlo (não tratada).	39
Tabela 8 – Factores (<i>F</i>), respectivos níveis (<i>n</i>) e identificação.	41
Tabela 9 – Valores médios (\pm DP) de TSS nas amostras <i>P_Am_NP</i> e <i>P_Am_P</i> ao longo da armazenagem a 5 °C.	43
Tabela 10 – Valores médios (\pm DP) de TSS nas amostras <i>P_Verm_NP</i> e <i>P_Verm_P</i> ao longo da armazenagem a 5 °C	43
Tabela 11 – Valores médios (\pm DP) de WI das amostras <i>P_Am_NP</i> e <i>P_Am_P</i> ao longo da armazenagem (5 °C).....	47
Tabela 12 – Valores médios (\pm DP) de WI das amostras <i>P_Verm_NP</i> e <i>P_Verm_P</i> ao longo da armazenagem (5 °C).....	47
Tabela 13 – Valores médios (\pm DP) do índice de consistência e de escoamento das amostras <i>P_Am_NP</i> e <i>P_Am_P</i> ao longo da armazenagem (5 °C).....	48
Tabela 14 – Valores médios (\pm DP) do índice de consistência e de escoamento das amostras <i>P_Verm_NP</i> e <i>P_Verm_P</i> ao longo ao longo da armazenagem (5 °C).	48
Tabela 15 – Resultados médios (\pm DP) dos atributos de análise sensorial (cor, sabor e cheiro) das amostras <i>P_Am_NP</i> e <i>P_Am_P</i> ao longo da armazenagem (5 °C).	50
Tabela 16 – Resultados médios (\pm DP) dos atributos de análise sensorial (cor, sabor e cheiro) das amostras <i>P_Verm_NP</i> e <i>P_Verm_P</i> ao da armazenagem (5 °C).....	50
Tabela 17 – Resultados análise centesimal para as polpas <i>P_Am</i> e <i>P_Verm</i>	51

LISTA DE ABREVIATURAS

Em seguida, apresenta-se uma listagem das abreviaturas utilizadas neste trabalho, organizadas alfabeticamente.

Ca	<i>circa</i> (cerca).
cf.	Conforme
CFT	Compostos fenólicos totais
DCCR	Delineamento central composto rotacional
Eq.	Equação
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
HF	Hortofrutícola.
HTST	Temperaturas elevadas durante curtos períodos (High Temperature – Short Time)
Id_amostra	Identificação da amostra
LTH	Baixas temperaturas durante longos períodos (Low Temperature Heating)
Micro 30 °C	Microrganismos aeróbios a 30 °C
NMP	Número mais provável
P_Am	Polpa amarela
P_Am_NP	Polpa amarela não pasteurizada
P_Am_P	Polpa amarela pasteurizada
P_Verm	Polpa vermelha
P_Verm_NP	Polpa vermelha não pasteurizada
P_Verm_P	Polpa vermelha pasteurizada
PAL	Enzima fenilalanina amónia-liase (PAL, EC. 4.3.1.5).
<i>per si</i>	Por si mesmo
PHF	Polpa de hortofrutícola.
POD	Enzima peroxidase (POD, EC 1.11.1.7).
PPO	Enzima polifenoloxidase (PPO, EC 1.10.3.1).
RSM	Metodologia de superfícies de resposta (Response surface methodology)
TCD	Diferença Total de cor (Total color different)
TSS	Teor de sólidos solúveis
TT	Tratamento térmico
UV-C	Irradiação Ultravioleta- C
WI	Índice de esbranquiçamento (Whiteness Index)

CAPÍTULO I – ENQUADRAMENTO TEÓRICO

1 INTRODUÇÃO

Os hortofrutícolas (HF) têm vindo a ganhar uma importância crescente para o consumidor, pela tomada de consciência dos seus benefícios para a saúde. No entanto, da mesma forma que o consumidor se preocupa mais com os seus hábitos alimentares, também dispõe de menos tempo para preparar refeições saudáveis, pelo que os produtos processados são particularmente convenientes às suas necessidades (Pereira e Rousseau, 2000).

As polpas de hortofrutícolas (PHF) são produtos naturais de elevada qualidade nutricional e funcional, obtido a partir das partes comestíveis dos HF, através de processos tecnológicos adequados, conservados em cadeia de frio e prontos a serem consumidos. Contudo, a taxa de deterioração da qualidade destes produtos é elevada e deve-se sobretudo a diversas reacções, tais como oxidações enzimáticas e desenvolvimento microbiano, conducentes à degradação dos diferentes atributos da qualidade. É assim necessária a optimização de metodologias de conservação convencionais ou a identificação de novas metodologias que garantam, tanto quanto possível, o controlo da deterioração enzimática e microbiológica com a maximização das características físico-químicas, e sensoriais do produto, por períodos compatíveis com a actividade comercial.

A nível industrial a prevenção das oxidações enzimáticas e/ou deterioração microbiana das polpas envolve normalmente a utilização do controlo químico através da adição de químicos de síntese.

A implementação de metodologias de conservação com recurso mínimo à utilização de agentes químicos vai de encontro às expectativas actuais do consumidor. Nesta óptica a optimização de metodologias de natureza física, onde se incluem os tratamentos térmico e de irradiação ultravioleta (UV-C) constitui uma estratégia tecnológica sustentável.

Constitui assim objectivo do presente trabalho optimizar a aplicação de tratamentos físicos, designadamente de tratamentos térmicos (TT) e de irradiação UV-C no processamento de duas polpas de hortofrutícolas, visando o controlo das reacções de oxidação enzimática e o desenvolvimento microbiológico, com manutenção das características composicionais e sensoriais, durante a armazenagem em refrigeração (5 °C).

As actividades experimentais foram desenvolvidas no âmbito do projecto QREN – CONVIT09: Polpas de frutos e hortícolas de elevada bio-actividade e conveniência (Equipa INRB do Lumiar).

2 COMPOSIÇÃO BIOACTIVA DOS HORTOFRUTÍCOLAS

A crescente consciencialização, por parte dos consumidores, da importância do consumo de HF na saúde conduziu, nos últimos anos, a um aumento significativo do respectivo consumo. Na dieta humana, estes alimentos constituem a principal fonte de fibras, veiculam baixos teores de gordura e, em oposição, fornecem elevados teores de compostos antioxidantes, tais como compostos fenólicos, carotenóides e vitaminas. Estas substâncias denominam-se por compostos bioactivos e existem em quantidades expressivas nestes produtos. A sua bioactividade é atribuída a propriedades antimutagénicas e anticancerígenas, assim como às capacidades de prevenção de doenças cardiovasculares e de outras relacionadas com o envelhecimento (Dillar e German, 2000). A capacidade antioxidante destes compostos exerce uma acção de prevenção aos danos oxidativos causados por espécies reactivas de oxigénio, cuja formação está na base do desenvolvimento de doenças degenerativas (Rice-Evans *et al.*, 1997; Lindley, 1998)

Nos HF os **compostos fenólicos** influenciam de forma determinante as características organolépticas, contribuindo activamente para a percepção da cor, sabor e aromas, em função do tipo e quantitativos presentes (Tomás-Barberán e Espín, 2001). A par de alguns pigmentos (carotenóides) e do ácido ascórbico, estes compostos contribuem na capacidade antioxidante dos HF. Estudos epidemiológicos, clínicos e *in vitro* têm demonstrado múltiplos efeitos biológicos relacionados com a ingestão dos mesmos, nomeadamente antioxidante, anti-inflamatório, antimicrobiano e anticarcinogénico (Rice-Evans *et al.*, 1997)

Os **carotenóides** são pigmentos naturais presentes em concentrações elevadas em frutos e hortícolas, como a cenoura, o tomate e a beterraba. A presença destes compostos é facilmente reconhecida pelas cores como, o amarelo, o laranja, o vermelho e o violeta, que conferem aos vegetais quando presentes em quantidades significativas (Cardoso, 2003).

Com base na sua composição, os pigmentos dividem-se em dois grupos: carotenos, que são constituídos apenas por átomos de hidrogénio e carbono, ex., α -, β - e γ -caroteno e licopeno; e xantofilas, que derivam dos carotenos por oxidação, ex. luteína, zeaxantina, β -criptoxantina e capsantina (Campos, 2005). Os carotenóides apresentam duas propriedades funcionais muito importantes, são precursores de vitamina A e apresentam capacidade antioxidante. Os α -caroteno, o β -caroteno e o γ -caroteno, do grupo dos carotenos, são os únicos, que são convertidos em vitamina A. A capacidade antioxidante, é comum em todos os carotenóides, e desempenha importantes propriedades biológicas, nomeadamente de actividade anticancerígena (ex. pulmão, pele, próstata) e de prevenção de patologias de foro cardiovascular (Stahl e Sies 2005; Rodriguez-Amaya, 1997). Esta vitamina actua a diferentes níveis, destacando-se o seu contributo para a visão, crescimento ósseo, divisão e

diferenciação celular, tendo a particularidade de apenas se encontrar em alimentos de origem animal (Stahl e Sies, 2005).

Dentro do grupo de **vitaminas**, o **ácido ascórbico**, vulgarmente conhecido como vitamina C, é um poderoso antioxidante hidrossolúvel, presente em concentrações elevadas nos hortofrutícolas. O ácido ascórbico encontra-se predominantemente na sua forma ionizada, ascorbato que por ser um composto muito instável é facilmente oxidado reversivelmente à forma dehidroascorbato, na presença de oxigénio e / ou luz. A subsequente reacção de hidrólise é irreversível e origina a forma ácido 2, 3 - dicetogulónico correspondente à perda total da sua actividade biológica. De entre as vitaminas hidrossolúveis é considerada a vitamina mais termolábil compreendendo perdas consideráveis no curso do processamento térmico dos alimentos.

O ácido ascórbico apresenta uma elevada biodisponibilidade desempenhando importantes acções no organismo humano tais como na prevenção da oxidação de radicais livres hidrossolúveis, na regeneração da actividade antioxidante da vitamina E, na formação do tecido conjuntivo e na protecção do sistema imunitário (Coxam *et al.*, 2008). Tem por isso a capacidade de prevenir o desenvolvimento de algumas doenças cardíacas e alguns tipos de cancro (Diplock, 1994).

3 POLPAS DE HORTOFRUTÍCOLAS

Não tendo sido encontrada uma definição de polpas de hortofrutícolas, no âmbito do presente trabalho adopta-se as definições de polpas de frutos com as respectivas adaptações.

A definição de “polpa de fruta” é, de acordo com a legislação portuguesa, “(...) a parte comestível de frutos inteiros, eventualmente descascados ou sem sementes, podendo apresentar-se cortada em rodela ou esmagada, mas não reduzida a polme.” (DL n.º230, de 27 de Fevereiro de 2003).

O Brasil é actualmente o terceiro maior produtor mundial de frutos, tendo-se tornando num principais produtores de polpas de frutos. Em 1978 polpa de fruta foi definida pela legislação brasileira como sendo “o produto obtido por esmagamento das partes comestíveis de frutas carnosas por processos tecnológicos adequados” (Resolução – CNNPA nº12, D.O de 24/07/1978). Em 2000 essa definição foi revista, devido ao aumento da inovação e desenvolvimento de novas tecnologias. Segundo a actual legislação brasileira polpa de fruta é “(...) um produto não-fermentado, não concentrado e não-diluído, com especificações do teor mínimo de sólidos totais na dependência das matérias-primas, provenientes da parte comestível da fruta, obtido de frutas polposas, por processo tecnológico adequado. A polpa

pode ser simples, quando originada de uma única espécie de fruta, ou mista, se originada de duas ou mais espécies” (Instrução Normativa nº1, de 7 de Janeiro de 2000). No presente estudo vai ser igualmente considerada a introdução de hortícolas, com o intuito de reforçar o carácter sensorial, nutricional e bioactivo das tradicionais polpas de frutos, sendo por isso esta última definição a que melhor se adapta a polpa de HF.

As polpas de HF, quando utilizadas técnicas e procedimentos adequados no processamento, e mantidas em refrigeração ou congelação, podem apresentar períodos de vida comercial alargados, e em consequência serem disponibilizados nas épocas de baixa produção das respectivas matérias-primas, o que representa uma vantagem adicional para a respectiva comercialização.

Para além do consumo *in natura*, as polpas de HF podem ainda servir como matérias-primas intermédias para outras indústrias, tais como na produção de gelados, iogurtes, doces de fruta, néctares e sumos (Brunini *et al.*, 2002).

Dados da Food and Agriculture Organization (FAO) indicam que a nível mundial o volume comercializado de produtos derivados de HF denotou um incremento de cinco vezes, nos últimos anos (Brunini *et al.*, 2002). É possível enquadrar esta procura na tendência actual do consumidor, de maior consciencialização dos benefícios associados ao consumo de HF.

A transformação de produtos HF contribui para o desenvolvimento do sector, ao permitir transformar produtos perecíveis e sazonais em produtos de conveniência prontos a consumir, ao mesmo tempo que se minimizam perdas e desperdícios. Estes produtos oferecem ainda potencialidades nutricionais e de bioactividade associadas aos hortofrutícolas e, ao mesmo tempo, uma variedade de sabores até agora limitado às polpas de frutos tropicais. Em Portugal, o consumo reflecte uma tendência crescente no entanto encontra-se limitado a produtos importados.

3.1 PROCESSAMENTO INDUSTRIAL

Na Figura 1, são apresentadas as principais operações unitárias que compõem o diagrama tecnológico geral de processamento de polpa de fruta. Na mesma são apresentados de forma sucinta objectivos e algumas considerações gerais sobre as diferentes fases do processamento.

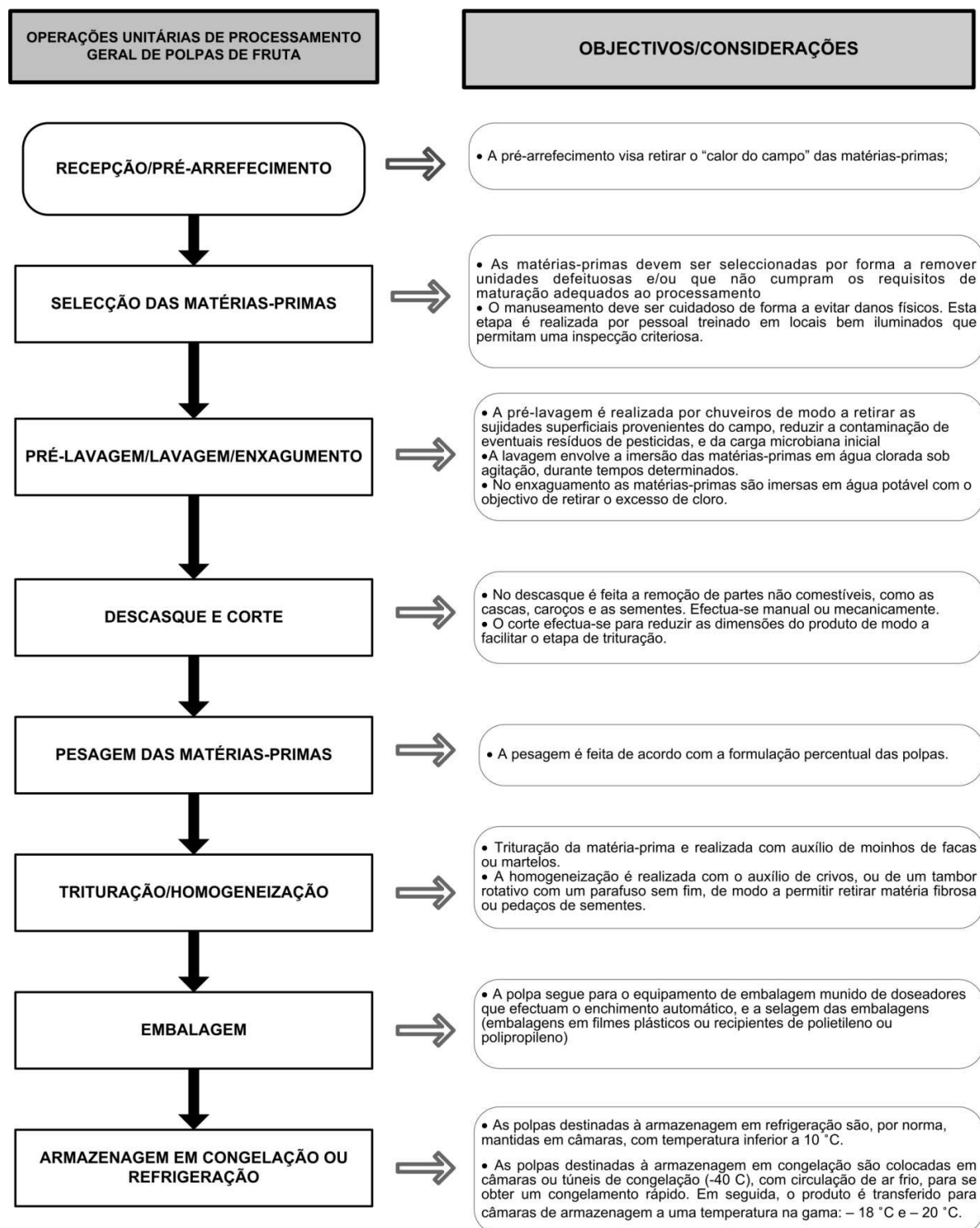


Figura 1 – Diagrama tecnológico geral de processamento de polpas de frutos.

Das operações tecnológicas incluídas no processamento de polpas, a etapa da selecção das matérias-primas é crucial para a qualidade final do produto. O estado de maturação, teor de sólidos solúveis e acidez dos HF, assim como as condições sanitárias no momento da colheita e os cuidados pós-colheita incluindo o transporte e/ou armazenagem fresco, constituem factores de qualidade decisivos que devem ser criteriosamente observados nesta fase (Dal Ri, 2006). Posteriormente, a pré-lavagem, lavagem e enxaguamento revelam-se igualmente importantes, uma vez que se não forem realizados correctamente eleva-se a probabilidade de contaminação química (eg. compostos desinfectantes) e microbiológica dos produtos nas etapas posteriores (Mororó, 2000).

Na operação de descasque e corte salienta-se a importância de minimizar os danos celulares provocados nos tecidos vegetais, independentemente desta operação ser executada manual ou mecanicamente. Em ambas as situações deverão ser utilizadas lâminas afiadas. A etapa de pesagem das matérias-primas, trituração e homogeneização deve ser realizada imediatamente após a operação de corte, de modo a diminuir o tempo de permanência dos produtos por forma a prevenir excessivas reacções de oxidação enzimática e de desenvolvimento microbiano. A embalagem do produto, última etapa do processo, faz parte integrante do sistema de conservação, uma vez confere protecção contra posteriores oxidações e contaminações microbiológicas, ajudando a preservar as características da qualidade. De modo a prolongar o período de vida útil das polpas, o produto deve ser armazenado e transportado em condições de refrigeração ($< +5\text{ }^{\circ}\text{C}$) ou de congelação ($< -18\text{ }^{\circ}\text{C}$), que deverão ser mantidas ao longo de toda a cadeia de distribuição.

3.2 ALTERAÇÕES DE QUALIDADE

As polpas de HF são produtos perecíveis, nomeadamente no que respeita à degradação dos diferentes atributos da qualidade com origens enzimáticas e/ou microbiológica.

3.2.1 Origem enzimática

Quando os tecidos vegetais dos HF são danificados pelo esmagamento ou corte, as enzimas entram em contacto com os respectivos substratos e, dada a presença de oxigénio, são favorecidas diversas reacções de oxidação enzimática (Marshall; Kim; Wei, 2000; Martinez; Whitaker, 1995). No caso particular das polpas de HF, a principal classe enzimática envolvida nestas reacções de deterioração da qualidade são as oxirredutases, nomeadamente as enzimas pertencentes aos grupos das polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD).

Em distintos HF a PPO, de nome sistemático *monofenol, di-hidroxifenilalanina: oxigénio redutase* (EC 1.14.18.1) foi alvo de diversos estudos. A sua actividade é variável,

dependente das espécies e cultivares e do respectivo estado de maturação (Vámos-Vigyázó, 1981 *cit in* Santos, 2009). A PPO participa nas reacções de oxidação de compostos fenólicos, das quais resulta a formação de o-quinonas que posteriormente, são polimerizadas em compostos de cor escura (Crumière, 2000), e em consequência responsáveis pela alteração de cor dos produtos. Além do escurecimento, pode também ser favorecido o desenvolvimento de sabores indesejáveis e a diminuição de valor nutricional (Garcia; Barret, 2002; Marshall; Kim; Wei, 2000).

A peroxidase (POD), *peróxido de hidrogénio oxidoreductase* (E.C.1.11.1.7.), tem como principal reacção catalisar a oxidação de compostos fenólicos, aminas aromáticas entre outros compostos orgânicos na presença de peróxidos de hidrogénio (Martins, 1991). Estão normalmente relacionadas com a formação de aromas indesejáveis (Martins, 1991), conhecendo-se também efeitos sobre a alteração da cor dos vegetais, por norma o respectivo escurecimento. Por acção desta enzima, as alterações de aroma devem-se sobretudo à oxidação de ácidos gordos insaturados, induzindo fenómenos de rancificação e libertação de compostos voláteis de aroma desagradável (Martins, 1991). As alterações de cor resultantes da acção catalítica da POD são por norma determinadas pela catalização preferencial de compostos fenólicos em isocoumarinas que, por sua vez, são polimerizadas a lenhina com respectiva acumulação nas superfícies cortadas dos HF (Bolin e Huxsoll, 1991).

A POD é uma enzima com elevada termorresistência, sendo normalmente utilizada como indicador da eficácia de tratamentos térmicos. O calor provoca alterações nas estruturas moleculares da peroxidase que podem alcançar a completa desnaturação / inactivação, considerando-se que quando este facto ocorre, se verifica a inactivação de outros sistemas enzimáticos (Laurente e Clemente, 2005).

3.2.2 Origem microbiológica

Nos HF o desenvolvimento microbiano é considerado uma das principais causas de deterioração (Koek *et al.*, 1983). De um modo geral, as características físico-químicas dos HF contribuem para o desenvolvimento selectivo de grupos de microrganismos (Pilon, 2003; Rosa, 2002). A composição dos HF rica em ácidos orgânicos, designadamente nos frutos confere-lhes normalmente um carácter ácido (correlacionado com valores de pH baixo). Contudo, a elevada disponibilidade de glúcidos, geralmente glicose, frutose, e várias pentoses e pectinas solúveis, associada a elevada actividade da água, contribuem para a deterioração microbiológica do produto (Pilon, 2003; Rosa, 2002). Apesar de alguns tecidos vegetais apresentem compostos com propriedades antimicrobianas (ex.: glucosinatos e

compostos carbonílicos), a sua efectividade na prevenção do desenvolvimento microbiano neste tipo de produtos é diminuta (Cherry, 1999; Lund, 1992).

No processamento de polpa de HF deve-se salientar a importância da microflora presente nas matérias-primas, bem como eventuais contaminações que possam ocorrer ao longo do processamento, embalagem e armazenamento que, podem contribuir para um desenvolvimento microbiano excessivo. Esta situação pode induzir a acumulação de metabolitos secundários responsáveis por alterações no aroma (produção de etanol e ácido láctico) depreciando a qualidade das polpas.

As polpas de frutos podem ser consideradas alimentos ácidos, uma vez que o seu valor de pH se situa normalmente entre 4,0 e 4,5. Nesta faixa de pH, os grupos de microrganismos capazes de se desenvolver no produto e deteriora-lo, pertencem preferencialmente aos grupos das bactérias lácticas, bolores e leveduras (Siqueira; Borges, 1997 *cit in* Santos *et al.*, 2008). Porém nas polpas de HF, a introdução de hortícolas, pode favorecer o desenvolvimento de outros tipos de microrganismos, uma vez que os mesmos apresentam um carácter menos ácido (valores de pH superior a 4,5). Nessa situação o grupo de bolores e leveduras é normalmente menos frequente que o das bactérias e favorecem-se as condições para a colonização de bactérias gram-negativas das famílias *Pseudomonáceas* e *Enterobacteriaceae* e das bactérias gram-positivas ácido-lácticas.

A microflora presente nos HF compreende uma grande diversidade de microrganismos, podendo contabilizar contagens de cerca de 10^5 a 10^7 UFC.g⁻¹ e incluindo a eventual presença de patogénicos (Hagenmaier e Baker, 1998). Os géneros *Pseudomonas*, *Enterobacter* e *Erwinia* representam cerca de 80 a 90% da flora bacteriana natural de contaminação dos HF (Francis *et al.*, 1999; Nguyen-The e Carlin, 1994; Marchetti *et al.*, 1992), sendo o género *Pseudomonas* o que apresenta maior competitividade (King *et al.*, 1991). No caso particular dos frutos, o grupo dos bolores e leveduras é normalmente mais problemático que o das bactérias, sendo a incidência de bolores superior à de leveduras, destacando-se os géneros *Sclerotinia*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Phoma* e *Rhizopus* (Nguyen-The e Carlin, 1994). No que respeita às leveduras, destacam-se os géneros *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., *Rhodotorula* spp., *Trichosporon* spp., *Pichia* spp. e *Toruslaspora* spp., sendo consideradas como potenciais causadoras de deterioração dos HF frescos (Guerzoni e Marchetti, 1987). Embora seja pouco comum, é possível que os HF veiculem microrganismos patogénicos como *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli*, *Entamoeba histolytica*, *Ascaris*, *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica* entre outros, sendo também possível isolar vírus (Black, 2002 e Chitarra; Chitarra 2005 *cit in* Sebastiany, 2006).

De acordo com a legislação brasileira e na medida em que as polpas de frutos são particularmente susceptíveis ao desenvolvimento de bolores e leveduras, estabeleceram-se como critérios limites nos produtos processados, contagens de $5 \times 10^3 \cdot g^{-1}$ e de $2 \times 10^3 \cdot g^{-1}$ para polpas *in natura* e conservadas quimicamente/termicamente, respectivamente. Em termos de saúde pública, a potencial presença de microrganismos patogénicos é avaliada pela determinação de *Salmonella* (ausente em 25 g de produto) uma vez que nestes produtos existem condições de temperatura, pH, e metabolismo respiratório favoráveis ao seu desenvolvimento. Em termos de qualidade higio-sanitária, o critério indicado na referida legislação refere o valor de 1.0 NMP.g⁻¹ (Instrução Normativa nº1, de 7 de Janeiro de 2000) como limite máximo para as contagens de coliformes fecais a 45 °C.

3.3 SISTEMAS DE CONSERVAÇÃO

Nas polpas de HF, a alteração da cor (escurecimento/acastanhamento) e o desenvolvimento de sabores e/ou aromas indesejáveis, são os principais causas da rejeição do produto. Para corresponder aos requisitos dos consumidores, nomeadamente no que se refere à preferência por produtos sem adição de aditivos, existem tratamentos convencionais e alternativos de natureza física.

Neste contexto a aplicação de calor e a irradiação ultravioleta (UV-C) apresentam boa adequação na medida em que não veiculam químico de síntese e exercem efeitos conhecidos a nível da inactivação microbiológica e enzimática. A implementação destes tratamentos (aplicação singular ou combinada) no processamento de polpas em combinação com os efeitos de temperatura baixa durante a armazenagem (refrigeração / congelação) revela potencialidades na obtenção produtos de qualidade com períodos de vida útil prolongados (Smith, 2011; Lado e Yousef, 2002; López-Malo e Palou, 2005).

3.3.1 Pasteurização

A pasteurização é um tratamento térmico, cujas variáveis de processo são o tempo e a temperatura e cujo objectivo é a eliminação das formas vegetativas de microrganismos de deterioração e patogénicos, presentes no alimento. Neste processo, o binómio tempo / temperatura deverá ser optimizado para garantir simultaneamente a redução dos níveis de actividade enzimática e destruição microbiana, minimizando o impacto em termos de valor nutritivo e características sensoriais do produto final (Fellows, 2000).

A eficiência da pasteurização depende de diversos factores, entre os quais se destacam: a contaminação inicial do alimento, a resistência térmica dos microrganismos e enzimas presentes, o pH e a transferência de calor no alimento (Freitas e Figueiredo, 2000). Pela sua elevada termorresistência, distinguem-se os microrganismos esporulados e termófilos

(certas espécies de *Bacillus* e *Clostridium* e alguns géneros de *treptococcus* e *Lactobacillus*), assim como o grupo das enzimas de oxidação redução (Roman, 2010). O pH neutro ou próximo da neutralidade pode aumentar a termorresistência das células vegetativas e/ou esporos, contudo valores de pH extremos (ácidos/básicos) favorecem a eficiência da destruição térmica dos microrganismos (Freitas e Figueiredo, 2000)

Na indústria alimentar a pasteurização pode ser aplicada essencialmente de duas formas, a temperaturas elevadas durante curtos períodos (HTST - *High Temperature – Short Time*) e a baixas temperaturas durante longos períodos (LTH - *Low Temperature Heating*).

A pasteurização em sumos e polpas de frutos tem sido objecto inúmeros estudos, no sentido de avaliar o impacto do tratamento térmico ao nível da qualidade nutricional e sensorial. Embora a pasteurização apresente efeitos favoráveis na inactivação enzimática e destruição de microrganismos termosensíveis, podem ocorrer alterações indesejáveis ao nível do valor nutricional e características sensoriais do produto. Rawson *et al.*, (2001) num estudo realizado em diversos frutos tropicais verificou uma diminuição do teor de compostos bioactivos, após pasteurização. Observações semelhantes foram registadas por Ahmed *et al.*, (2002) em polpa de papaia. Em polpa de acerola, a pasteurização proporcionou a diminuição do conteúdo bioactivo, assim como o teor sólidos solúveis, açúcares totais e redutores (Lima 2010). A utilização de binómios tempo-temperatura inadequados pode acarretar alterações indesejáveis nas características do produto, nomeadamente perda de compostos de aroma e sabor, degradação térmica de nutrientes mais termosensíveis (como as vitaminas) e de cor, com perda de pigmentos ou escurecimento não enzimático (possíveis caramelizações) (Smith, 2011). Neste sentido é essencial encontrar um binómio tempo/temperatura ideal para cada tipo de produto, de modo a garantir a estabilidade com o mínimo impacto nas suas características sensoriais e nutricionais.

No âmbito do processamento de polpas de frutos, a pasteurização tem demonstrado resultados favoráveis na manutenção da qualidade, sobretudo pela capacidade de prevenir a degradação da cor e proporcionar inactivação enzimática e microbiológica, adequadas. Revela-se assim uma ferramenta interessante para o prolongamento do período de vida útil das polpas de frutos existindo diversos estudos que evidenciam estes efeitos. Bastos *et al.*, (2006) verificou que a selecção do binómio tempo-temperatura optimizado em polpa de Taperebá (*Spondias mombim*) garantiu a estabilidade de atributos como a cor e o teor de ácido ascórbico. A nível microbiológico, alcançou um nível de redução de aproximadamente 4 ciclos logarítmicos (99,99%), e uma inibição total da actividade da enzima POD. Monteiro *et al.* (2005) e Amaro *et al.* (2002) verificaram que a pasteurização de polpa de maracujá resultou em alterações pouco significativas das características físico-químicas (pH, acidez total, TSS e ácido ascórbico), a par duma redução significativa da contagem inicial de

microrganismos. Conclusões semelhantes foram obtidas por Umme *et al.* (2001) em polpa de graviola, Oliveira *et al.* (2011), em polpa de umbu (*Spondias tuberosa*) e por Faraoni (2006) e Sugai e Tadini (2006) em polpa de manga.

3.3.2 Radiação UV-C

A radiação ultravioleta, comprimento de onda entre 200-280 nm (UV-C) é efectiva na eliminação de bactérias, fungos, protozoários, vírus e algas, apresentando por isso valências com potencial aplicação na indústria alimentar (López-Malo e Palou, 2005).

A acção letal da radiação UV-C sobre a flora microbiana, incluindo patogénicos, surge como consequência da dimerização das cadeias de ADN e inibição de transcrição/tradução celular, inviabilizando a reprodução dos microrganismos (Ohlsson, 2002, Sastry *et al.*, 2001; Morgan, 1989). São inúmeras as evidências que sugerem a eficiência da utilização deste tratamento para efeitos de descontaminação em produtos líquidos (Koutchma, 2009; Selma *et al.*, 2008) e nas superfícies de produtos sólidos (Gardner e Shama, 2000). No entanto, a reduzida capacidade de penetração da radiação UV-C apresenta-se como a principal desvantagem na aplicação desta tecnologia em produtos alimentares.

A emissão da radiação UV-C a 254 nm, é efectuada, por norma, com recurso a lâmpadas de descarga de vapor de mercúrio a baixa pressão (Shenck, 1987 *cit in* Shama e Alderson, 2005). A dose de radiação recebida pelo alimento depende da distância entre a fonte de emissão e a área de irradiação bem como da duração da operação. Esta técnica foi utilizada inicialmente como um tratamento de descontaminação superficial no armazenamento pós-colheita de frutos dado os seus efeitos de prevenção de doenças pós-colheita em frutos como maçã, pêssigo e papaia (Stevens *et al.*, 1996, Cia *et al.*, 2007 *cit in* Falguera V., *et al.*, 2011). A deterioração de cebola e cenoura foi também retardada no período pós-colheita na sequência deste tratamento (Lu *et al.*, 1987 *cit in* Falguera *et al.* 2011, Mercier & Arul, 1993 *cit in* Falguera *et al.* 2011).

Allende & Artés (2003) e González-Aguilar *et al.* (2001) demonstraram a sua aplicabilidade também para a descontaminação de HF minimamente processados. Acresce ainda que González-Aguilar *et al.* (2007) verificaram que a radiação UV-C (doses baixas) promove também respostas favoráveis a nível fisiológico dos HF, nomeadamente o aumento na resistência a doenças do período pós-colheita, controlo de processo de senescência (Liu *et al.* 1993), produção de agentes anti-fúngicos e pelo atraso na maturação dos HF (Shama e Alderson, 2005).

O aumento da capacidade antioxidante de HF minimamente processados foi também verificado na sequência da aplicação deste tratamento como demonstram os trabalhos de

González-Aguilar *et al.*, 2007 em manga, Erkan *et al.* (2008) em morango e Alegria *et al.* (2012) em cenoura. Essas alterações ocorrem pelo facto da irradiação UV-C estimular a produção da enzima fenilalanina amónia-liase (PAL), responsável pela síntese de compostos fenólicos. Estes compostos são importantes ao contribuírem para elevar a resistência de HF à deterioração microbiana e pelos acréscimos alcançados ao nível funcional (Ben-Yehoshu *et al.*, 1992; D'Hallewin *et al.*, 2000, Stevens *et al.*, 1999 *cit in* Falguera V., *et al.* 2011). No entanto, estudos em HF, alertam para que as doses de radiação devem ser optimizadas por produto na medida em que Liu *et al.* (1993) e Lamikanra e Richard (2004); Beaulieu, (2007) *cit in* Manzocco *et al.* (2011) demonstraram que doses inapropriadas podem induzir à descoloração da pele de tomate e também induzir a alteração do sabor característico de frutos tropicais, respectivamente.

Os efeitos de irradiação UV-C de polpas de frutos na descontaminação microbiana foram ainda pouco explorados. Diversos autores têm estudado o efeito da radiação UV-C na eliminação da flora microbiana de deterioração em sumos de fruta e derivados, sem que a qualidade sensorial e nutricional tenha sido afectada (Guerrero-Beltrán e Barbosa-Cánovas 2005; Keyser *et al.*, 2008; Tran e Farid, 2004 e Falguera, 2011). Em sumo de laranja Tran e Farid (2004) verificaram que o tratamento por UV-C foi eficaz na redução microbiológica e consequentemente levou ao respectivo aumento do período de vida útil. Observações semelhantes foram relatadas por Guerrero-Beltrán e Barbosa-Cánovas (2005) em sumo de maçã clarificado.

A investigação dos efeitos da irradiação UV-C em sumos e néctares de frutos tem revelado bons resultados na redução da carga microbiana, sem comprometer as respectivas características organolépticas e nutricionais. Num estudo realizado por Keyser *et al.* (2008) foi verificado que sumos clarificados, como o de maçã, necessitavam, de doses de UV-C mais baixas, para alcançar o mesmo nível de redução microbiana, por comparação com sumo de laranja e sumo de frutos tropicais, que devido à maior quantidade de matéria em suspensão, necessitaram de doses superiores. Estes estudos salientam a importância da optimização das variáveis de processo em função dos efeitos da quantidade de sólidos solúveis na capacidade de penetração da luz UV-C nos produtos. Por outro lado, o tratamento com radiação UV oferece ainda outras vantagens para a indústria dos alimentos, uma vez que não tem restrições legais de utilização e não origina resíduos tóxicos (Keyser *et al.*, 2008). É uma tecnologia fácil de usar e envolve baixos custos quer energéticos, quer de equipamento e manutenção (Barbosa-Canovas *et al.*, 1998; Miller *et al.*, 1999; Bintsis *et al.*, 2000 *cit in* Manzocco *et al.*, 2011).

3.3.3 Refrigeração

A conservação pelo frio permite controlar diferentes mecanismos de deterioração, nomeadamente através da redução do desenvolvimento microbiano e da actividade enzimática (Fellows, 2000). A manutenção das matérias-primas e produtos a temperaturas entre 0 ° e +5 °C é um dos principais métodos de conservação utilizados, e tem capacidade para manter as características organolépticas próximas das originais, contudo o período de vida útil de produtos refrigerados é limitado a alguns dias. Por outro lado, a congelação efectuada a temperaturas mais baixas (-1 ° a -40 °C), leva à conservação do produto, por períodos mais longos, normalmente de diversos meses (Fellows, 2000).

Os microrganismos apresentam uma temperatura óptima de desenvolvimento, pelo que é necessário manter valores de temperatura abaixo dos respectivos valores óptimos com o objectivo de prevenir a respectiva proliferação. O mesmo raciocínio pode ser utilizado na prevenção de reacções enzimáticas indesejáveis (valores de temperatura inferiores à temperatura óptima de actividade). A refrigeração inibe o desenvolvimento de diversos microrganismos mesófilos e termófilos, porém os microrganismos psicrótróficos (0° a +8 °C) são ainda capazes de se desenvolver e produzir toxinas em condições de refrigeração (Fellows, 2000). Deve ainda ser tida em consideração o nível inicial de contaminação patogénica, nomeadamente por *Aeromonas hydrophilia*, *Listeria* spp, *Yersinia enterocolitica*, entre outros que pode manter-se viável em condições de refrigeração prolongada (<5 °C)(Fellows, 2000).

O sucesso da refrigeração depende de diversos factores, entre os quais se destacam: a temperatura, a humidade relativa, a circulação de ar e qualidade inicial da matéria-prima. A taxa de refrigeração de um alimento depende da eficiência com que a energia se dissipa à sua superfície. A temperatura da câmara de refrigeração deve ser controlada, de modo a prevenir oscilações de temperatura. A humidade do ar dentro da câmara varia com o alimento e está directamente relacionada com o tipo de produto. Valores de humidade relativa baixa determinam perdas de humidade no alimento, podendo ocorrer uma desidratação excessiva, ao passo que a situação inversa pode facilitar o desenvolvimento microbiano. A circulação do ar facilita a distribuição de frio dentro da câmara, permitindo uniformizar a temperatura (Fellows, 2000).

Na indústria de polpas de HF, a refrigeração (0 °C - 5 °C) é utilizada como um método complementar a par da pasteurização e da utilização de aditivos. Na manutenção da qualidade dos produtos é desejável garantir a manutenção da cadeia de frio durante o todo o ciclo produtivo incluindo a distribuição e comercialização.

CAPITULO II – DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATÉRIAS-PRIMAS

As matérias-primas utilizadas neste estudo foram cedidas pela empresa Campotec parceira ao abrigo do Projecto QREN – CONVIT09. Foram utilizadas: pêra Rocha (*Pyrus communis* L.), ananás (*Ananas sativus*), beterraba (*Beta vulgaris* L.), morango (*Fragaria ananassa* Duch.) e limão (*Citrus limonum* L.).

Após a recepção das matérias-primas procedeu-se a uma selecção (para constituição de lotes homogéneos, através de apreciação e inspecção visual com eliminação de unidades defeituosas (podridões e outros danos). Após esta operação foram mantidas em refrigeração a $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ (câmara Cryocell - RS600SE) até utilização nos respectivos ensaios, num prazo máximo de uma semana.

4.2 PROCEDIMENTOS TECNOLÓGICOS

4.2.1 Preparação das polpas

Este trabalho centrou-se em duas polpas, cujas formulações foram previamente optimizadas num trabalho realizado em paralelo. Estas foram identificadas pela sua cor característica - P_Amarela (50% perâ 50% ananás) e P_Vermelha (66% pera, 30% morango, 4% beterraba e 1,5% de sumo de limão).

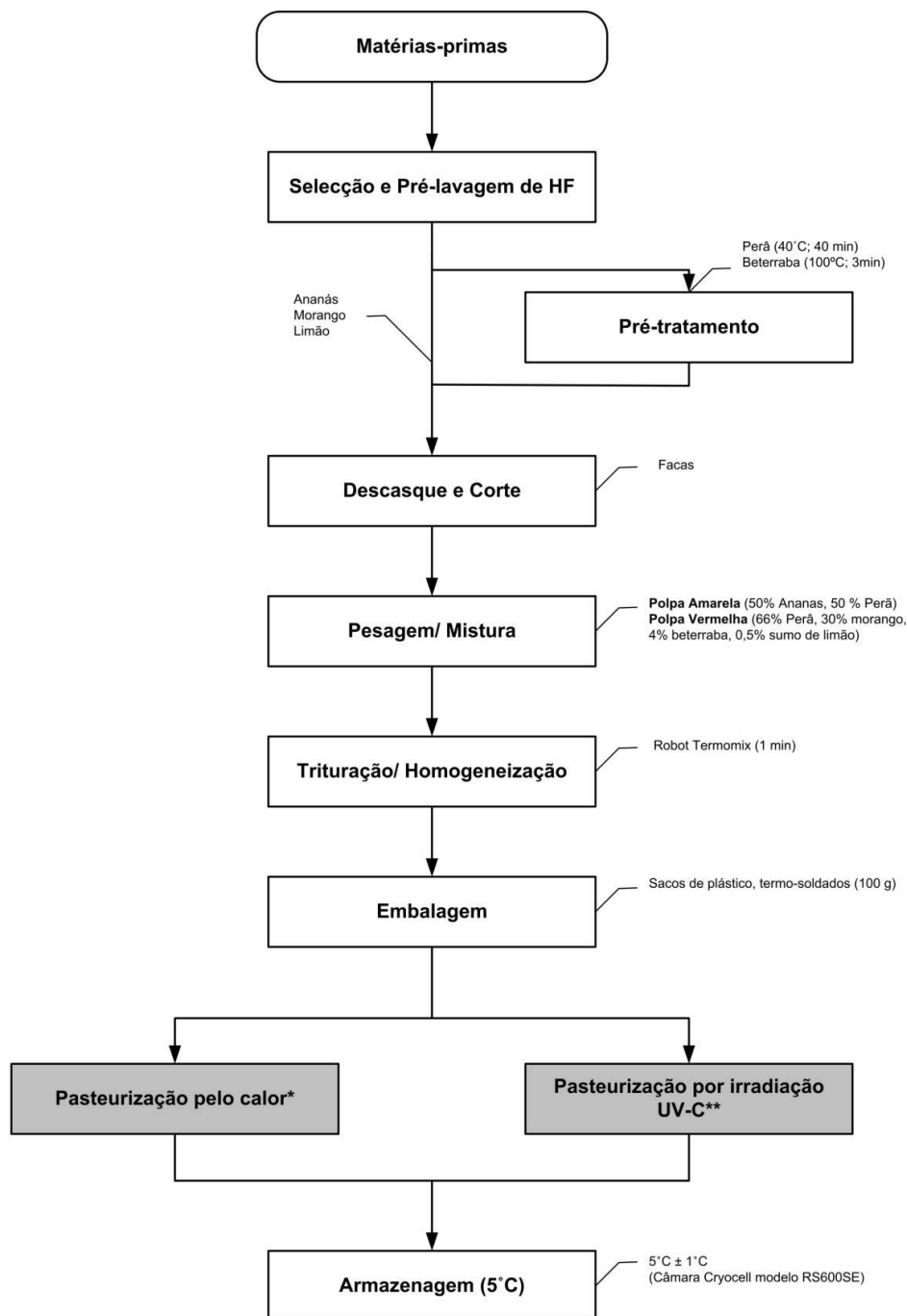
Como operação prévia ao processamento, todos os materiais em contacto com os HF - bancadas de trabalho, facas, homogeneizador e recipientes foram convenientemente higienizados e desinfectados com uma solução de etanol a 70%, para garantir um adequado padrão de qualidade higiénica. Os operadores/manipuladores seguiram igualmente uma conduta de higiene adequada.

Para a elaboração das polpas efectuou-se uma pré-lavagem em água das matérias-primas: ananás, morango e limão e quando previsto (pêra e beterraba) o respectivo pré-tratamento térmico. As intensidades térmicas utilizadas foram: 40 min/40 °C para a pêra (Abreu *et al.*, 2003), e de 3 min/100 °C para a beterraba (resultados não publicados). Os pré-tratamentos térmicos foram efectuados através da imersão dos frutos em banhos de água termostatizados, com os respectivos binómios tempo/temperatura adequados ao produto, seguindo-se o arrefecimento em banho de água e gelo. Para o controlo da temperatura foram utilizados termopares tipo T, (Ellab). Após estas operações a água remanescente foi removida com papel absorvente.

O descasque e corte dos HF foram realizados manualmente com facas de aço inox, seguindo-se a pesagem individual dos HF de acordo com a formulação estabelecida de 1kg.

A mistura e homogeneização foram executadas num copo de aço inox por intermédio de um conjunto de 4 lâminas a 10000 rpm (Robot Termomix) durante 1 minuto. A polpa resultante foi dividida em porções de 100 e 200 g, embaladas em sacos de polietileno de baixa densidade aptos para o uso alimentar, termo-soldados e conservados em refrigeração ($5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ até se proceder às respectivas análises.

Na Figura 2 esquematizam-se o conjunto de operações de preparação das polpas.



* Pasteurização pelo calor de acordo com o procedimento (cf. ponto 4.2.2) e optimização do binómio tempo/temperatura (cf. ponto 4.5)

** Pasteurização por irradiação UV-C de acordo com o procedimento (cf. ponto 4.2.3) e optimização da intensidade da dose de radiação (cf. ponto 4.6)

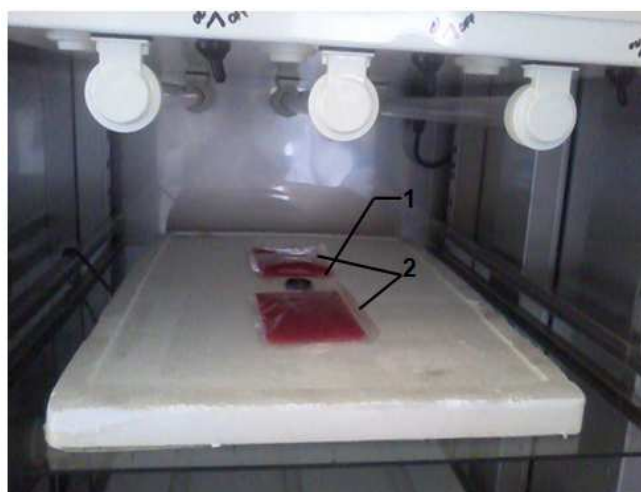
Figura 2 – Diagrama de processamento das polpas de HF considerando as tecnologias alternativas em estudo

4.2.2 *Pasteurização pelo calor*

Os tratamentos de pasteurização foram executados pela imersão dos sacos, de polietileno de baixa densidade (100 g 10 x 10x 1,5cm), em banhos de água, termoestatizados e com agitação (Hakhe N2). Foi realizada uma monitorização das condições de tratamento com termopares tipo T (Ellab) e um termoregistador (Ellab CMC 821). Os tempos de tratamento são contabilizados a partir do momento em que as amostras são imersas nos banhos de água. Após cada condição definida as amostras foram arrefecidas, por imersão em banho de água e gelo (ca 5 min).

4.2.3 *Pasteurização por irradiação UV-C*

A irradiação UV foi realizada numa câmara Fitoclima modelo S 600 Pharma equipada com uma plataforma com em paralelo, de 3 lâmpadas UV-C dispostas paralelamente (emissão máxima 254 nm, Germicida TUV 18W. Phillips, The Netherlands) de dimensão 59 X 2,8 cm a distar entre si e das paredes laterais da câmara de 14 cm e 12,5 cm, respectivamente. Os tratamentos de irradiação foram efectuados colocando os produtos numa superfície a uma distância de 20 cm das lâmpadas, no interior da área (Figura 3) onde foi constatada a homogeneidade da dose UV recebida. Os tratamentos foram executados com o produto embalado em sacos de plástico cujo material foi previamente testado quanto à permeabilidade à radiação UV-C. A intensidade de irradiação foi monitorizada com um fotoradiómetro HD2102.2 (Delta Ohm. Padova. Italy) equipado com uma sonda LP471 UVC (Delta Ohm. Padova. Italy) colocada ao nível das amostras. Com o intuito de caracterizar a influência da temperatura ambiente na dose de radiação UV-C emanada durante os tratamentos, foram efectuadas vários ensaios a três valores de temperatura (5 °C, 15 °C e 25 °C) durante as quais se monitorizaram, sempre no mesmo local, as doses irradiadas em função de tempos crescentes (Figura 4). Da mesma forma é possível observar que a dose de radiação UV-C foi directamente proporcional ao tempo e temperatura de exposição do tratamento. De acordo com este comportamento seleccionou-se a temperatura de 25 °C por alcançar mais rapidamente valores de intensidade de radiação equivalentes.



Legenda:

1 – Sonda

2 - Amostras

Figura 3 – Área de irradiação das amostras.

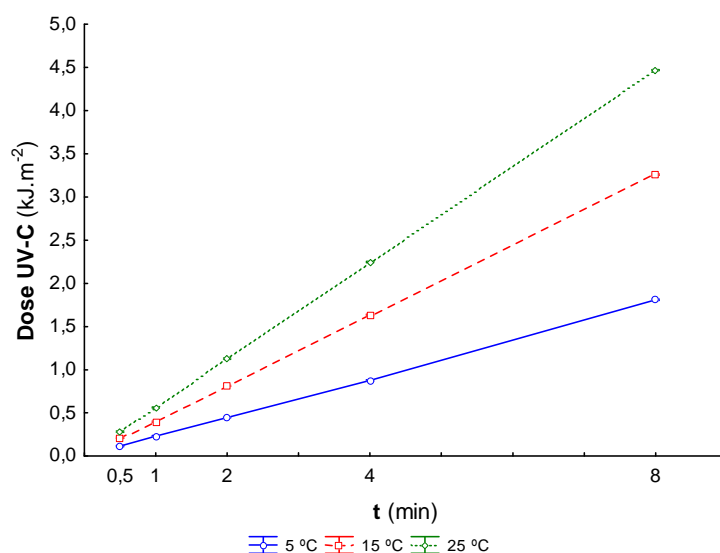


Figura 4 – Dose de radiação UV em função do tempo e da temperatura (5°, 15° e 25° C) de exposição

As amostras embaladas em sacos (10 X 15 cm e 1 cm de espessura) receberam (à temperatura seleccionada de 25 °C) nas duas faces a mesma dose de radiação (ver Figura 3) seguindo-se a armazenagem (5 °C), até serem analisadas.

4.3 MÉTODOS ANALÍTICOS

4.3.1 Cor CIE Lab

A cor das polpas foi avaliada com um colorímetro *Minolta Cr 300* (Osaka, Japão), no sistema *CIE Lab*, (iluminante C), sendo a calibração efectuada a partir do padrão de referência branco ($L^*=97,10$; $a^*=0,19$; $b^*=1,95$). Para cada amostra foram efectuadas 5 medições.

No sistema CIE, o valor de L^* representa a luminosidade e traduz a variação de escuro/claro, em que 0 equivale a preto e 100 a branco. O valor a^* varia de vermelho (+60) a verde (-60) e o valor b^* varia de amarelo (+60) a azul (-60). As coordenadas a^* e b^* aproximam-se de 0 para cores neutras (branco, cinzento e preto). A partir destes parâmetros foram ainda calculadas a saturação ou cromatocidade da cor, valor C^* , a tonalidade $^{\circ}h$ (Hue), o índice de escurecimento (WI) e a diferença total de cor TCD (*Total Color Difference*). A Cromatocidade C^* (Eq. 1) é uma medida do Croma ou da saturação da cor e representa a distância ao eixo neutro. O parâmetro $^{\circ}h$ (Eq. 2 a Eq. 4) traduz a tonalidade da cor e pode ser definido como o ângulo ($0 - 360^{\circ}$) (ver Figura 5). Os ângulos formados variam pelos eixos dos parâmetros a^* e b^* , definindo assim a tonalidade da cor, sendo que os ângulos entre 0° e 90° correspondem aos vermelhos, laranjas e amarelos; de 90° a 180° os amarelos, amarelo-verdes e verdes; de 180° a 270° os verdes, cianos e azuis; de 270° a 360° os azuis, púrpuras, magentas e novamente os vermelhos (Dafne, sd.).

$$C^* = \sqrt{(a^{*2} + b^{*2})} \quad (\text{Eq. 1})$$

$$^{\circ}h = \frac{\left(\arctg \frac{b^*}{a^*} \right)}{6.2832} \times 360, \text{ se } a^* > 0 \text{ e } b^* > 0 \quad (\text{Eq. 2})$$

$$^{\circ}h = 180 + \frac{\left(\arctg \frac{b^*}{a^*} \right)}{6.2832} \times 360, \text{ se } a^* < 0 \quad (\text{Eq. 3})$$

$$^{\circ}h = 360 + \frac{\left(\arctg \frac{b^*}{a^*} \right)}{6.2832} \times 360, \text{ se } a^* > 0 \text{ e } b^* < 0 \quad (\text{Eq. 4})$$



Figura 5 – Tonalidade de cor correspondente ao ângulo °h (0 – 360°).

Disponível em <http://www.dtpstudio.de/english/raldesign.html>

Segundo Bolin e Huxsoll (1991), o índice de escurecimento (WI) (Eq. 5) é o parâmetro que traduz a maior ou menor presença de branco à superfície da amostra, de acordo com a escala apresentada na Tabela 1.

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}} \quad (\text{Eq. 5})$$

Tabela 1 – Classificação do nível de esbranquiçamento (Whiteness Index, Bolin e Huxsoll, 1991).

WI (%)	Nível de esbranquiçamento
0	Não branco
3,3 - 8,3	Ligeiramente branco
8,3 - 25	Moderadamente branco
25 - 50	Distintamente branco
50 - 100	Extremamente branco

A diferença total de cor (*TCD- total colour difference*) (Eq. 6) é um parâmetro que quantifica a diferença de cor entre uma dada amostra (L^*, a^*, b^*) e uma amostra de referência (L^*_0, a^*_0, b^*_0) (Minolta, 1994). Neste estudo a referência utilizada foram as coordenadas avaliadas nas amostras logo após-processamento.

$$TCD = [(L^* - L^*_0)^2 + (a^* - a^*_0)^2 + (b^* - b^*_0)^2]^{1/2} \quad (\text{Eq. 6})$$

O valor numérico deste parâmetro pode ser correlacionado com a percepção sensorial das diferenças de cor através da classificação de Drlange (1994), expressa na Tabela 2.

Tabela 2 – Classificação do grau de diferenças pelo valor de TCD (Drlange, 1994).

TCD	Grau de diferenças
0,0 <TCD< 0,2	Imperceptível
0,2<TCD< 0,5	Muito pequena
0,5<TCD< 1,5	Pequena
1,5<TCD<3	Distinta
3<TCD<6	Muito distinta
6<TCD<12	Grande
TCD> 12	Muito grande

4.3.2 Viscosidade

A avaliação da viscosidade aparente das polpas (expressa em cP ou Pa.s) foi realizada utilizando um viscosímetro Brookfield modelo RVT, com recurso ao spindle RV n.º 5 nas velocidades de rotação de 2, 4, 10 e 20 rpm, em condições de temperatura controlada e à pressão ambiente ($20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$). Para cada amostra foram efectuadas 3 medições. A partir dos valores de viscosidade aparente foi igualmente caracterizado o comportamento reológico das polpas e o seu ajuste à lei da potência (determinação dos índices de consistência (k , Pa.s^{*n*}) e de escoamento (n)).

4.3.3 pH

O valor de pH foi medido directamente na polpa com auxílio de um potenciómetro Crison Micro pH 2001 à temperatura ambiente. Os valores médios de pH resultaram de 3 determinações por amostra.

4.3.4 Teor de Sólidos Solúveis

O teor de sólidos solúveis (TSS) foi determinado utilizando um refractómetro ATAGO DDR-A1 Refractometer. As leituras efectuaram-se directamente sumo após filtração (gaze) da polpa. Os resultados são expressos em °Brix (percentagem de sólidos solúveis por 100 g de produto) e, resultaram de 3 determinações por amostra.

4.3.5 Conteúdo Fenólico Total

A determinação de compostos fenólicos totais é baseada na reacção colorimétrica promovida pelo reagente Folin-Ciocalteu de acordo com Swain e Hillis (1959). A preparação do extracto fenólico foi efectuada pela mistura de 1:4 (p:v) de polpa e metanol (100%) seguida de homogeneização a 20000 rpm x 1min (polytron Yellow, Line DI 25 Basic). A extracção compreendeu um período de espera do homogeneizado *overnight* a 4 °C. Para obtenção do extracto fenólico seguiu-se uma centrifugação 12000 rpm x 8 min (eppendorf centrifuge 5415) e armazenou-se o sobrenadante (extracto fenólico) a 4 °C. Para o doseamento efectuou-se a mistura, em tubos de 5ml, de 2400 µl de água nanopura com 150 µl de extracto fenólico e 150 µl de reagente Folin-Ciocalteu (0,25 N). Agitou-se a mistura e ao final de 3 minutos adicionou-se 300 µl de 1 N carbonato de sódio, agitou-se novamente e esperou-se 2 h no escuro e à temperatura ambiente. Efectuaram-se 3 leituras espectrofotométricas a $\lambda = 725$ nm, para cada extracto de amostra. Os cálculos basearam-se na interpolação dos valores de absorvância na curva de calibração de ácido clorogénico (0 – 0.35 mg/ml), expressando-se os resultados em mg de equivalentes de ácido Clorogénico por 100 g de produto (mg EAC.100 g⁻¹).

4.3.6 Actividade da enzima peroxidase

A técnica para a determinação da actividade enzimática da POD foi adaptada da descrita por Bifani *et al.* (2002). As modificações introduzidas deveram-se ao facto de se ter verificado a necessidade de concentrar o extracto enzimático de forma a garantir a reprodutibilidade e repetibilidade da técnica. Decorrente deste facto, foram optimizadas as condições de extracção e doseamento espectrofotométrico para garantir a estequiometria da reacção enzimática durante um minuto.

Por optimização, estabeleceu-se a concentração de substrato a utilizar para a determinação da actividade enzimática da POD, sendo esta de 44.5 mM de peróxido de hidrogénio e de 44.7 mM de guaiacol, para um extracto enzimático obtido nas condições de mistura polpa:solução de extracção (1.5 M NaCl em 0.1 M tampão fosfato, pH 7) de 1:3 (p:v). Após obtenção do extracto enzimático por centrifugação (eppendorf centrifuge 5415), fez-se reagir uma alíquota deste com 3 ml de substrato (44.5 mM H₂O₂, 44.7 mM Guaiacol em 1.5 M NaCl em 0.1 M tampão fosfato, pH 7), perfazendo um volume total de 3.2 ml. Define-se 1 unidade (U) como a variação de 1 unidade de absorvância a 470 nm (espectrofotómetro ATI UNICAM UV/VIS 4) por minuto por mililitro, nas condições de ensaio.

4.3.7 Contagem de Microrganismos a 30 °C

Determinação realizada de acordo com a norma EN ISO 4833: 2003 no laboratório de microbiologia da Unidade de Investigação em Tecnologia Alimentar do INRB-INIAV.

4.3.8 Avaliação sensorial

As polpas foram avaliadas sensorialmente por testes de ordenação (ordenação crescente, de pior para melhor, numa escala estruturada de 6 níveis) com codificação alfanumérica das amostras, considerando um painel semi-treinado de 15 provadores (cumprindo os requisitos da ISO 8586-1, 1993). Os atributos sensoriais em avaliação foram: cor, sabor, e aroma e avaliação global (Ficha de prova no Anexo 1.).

4.3.9 Análise centesimal

As polpas foram submetidas a uma análise centesimal cálculo do valor nutricional. Estas análises foram realizadas no laboratório de química da Unidade de Química Alimentar UITA, de acordo com as normas específicas (Tabela 3). As determinações efectuadas foram, teor de humidade, fibra, gordura, cinza, açúcares e proteína.

Tabela 3 – Normas utilizadas para cada parâmetro da análise centesimal realizada.

Parâmetro	Normas
Teor de Humidade	NP 1614 de 2009
Fibra	ISO 6865 de 2000
Gordura	NP-1613 de 1979
Cinza	NP- 1615 de 2002
Açúcares	NP - 1419 de 1987
Proteína	NP-1612 de 2006

4.4 TRATAMENTO ESTATÍSTICO

O tratamento estatístico dos resultados foi efectuado com recurso ao Software StatísticaTM v.8.0 da Statsoft (StatSoft, Inc., 2007).

4.4.1 Metodologia de superfícies de resposta (RSM)

O delineamento experimental para a situação da metodologia de superfícies de resposta (RSM), envolveu quatro etapas: selecção das variáveis independentes e respectivos níveis; formulação do delineamento central composto rotacional – DCCR; construção do modelo; e encontrar as soluções óptimas na situação em que o modelo apresentou validade estatística (Arteaga *et al.*, 1994).

O delineamento experimental incluiu duas variáveis independentes ($n=2$). O ensaio definido por estes pontos compreendeu: 2 n pontos para um modelo factorial completo (n_q =pontos quadráticos) (níveis +1 e -1), 2 n pontos axiais (n_e =pontos estrela), codificados com $+\alpha$ e $-\alpha$. O valor de α deriva do número de pontos do modelo factorial (F) e do número de variáveis (n), sendo calculado pela equação $\alpha = \sqrt{n_q}$, onde $n_q = n^0$ de pontos quadráticos, resultando $+\alpha = 1,41$ e $-\alpha = -1,41$, para as 2 variáveis. Tendo ainda 4 repetições no ponto central (n_0 =pontos centrais). O ponto central fornece uma média para estimar o erro experimental e a falta de ajuste e, os pontos axiais são adicionados para estimar a curvatura do modelo.

Para cada resposta em estudo (variável dependente Y), os respectivos resultados experimentais foram ajustados a equações polinomiais de segunda ordem (Eq. 7) e submetidos à análise de regressão multivariada (ANOVA) para avaliar a qualidade dos modelos.

<p>(Eq. 7) $Y = b_0 + b_1T + b_{11}T^2 + b_2t + b_{22}t^2 + b_{12}Tt$</p>	<p>b_n: coeficientes de regressão T, t: variáveis independentes, temperatura e tempo, respectivamente</p>
--	--

Na avaliação da significância e validade dos modelos foram tidos em conta os seguintes parâmetros: coeficientes de regressão múltipla (r^2 e r^2_{ajuste}), falta de ajuste do modelo (*lack of fit*) e erro puro. Considerou-se um nível de ajuste adequado para os modelos quando a respectiva falta de ajuste é não significativa ($p>0,05$), o erro puro é significativo ($p<0,05$), tanto quanto possível a proximidade à unidade para r^2 e uma diferença menor que 0.1 unidade entre r^2 e r^2_{ajuste} (Montgomery, 1991). Quando se revelou necessário e para fazer cumprir os critérios mencionados efectuou-se a remoção de efeitos entre as variáveis independentes em jogo (linear e/ou quadrático e/ou combinado) através da metodologia “passo-a-passo” (passo-a-trás / backward removal).

4.4.2 ANOVA

A separação de médias foi efectuada segundo o teste Schéffe, para um nível de significância de 95 %.

5 OPTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE PASTEURIZAÇÃO POR TRATAMENTOS TÉRMICOS E RADIAÇÃO UV

Nesta fase pretendeu-se otimizar as condições de pasteurização (calor e UV-C) das duas polpas cujas formulações foram previamente optimizadas - P_{Amarela} (50% perâ 50% ananás) e P_{Vermelha} (66% pera, 30% morango, 4% beterraba e 1,5% de sumo de limão).

5.1 OPTIMIZAÇÃO DO BINÓMIO T/T

As condições de pasteurização de duas polpas de HF - binómio tempo-temperatura tiveram por base a seguinte hipótese:

H₁ – Para as polpas de HF P_{Am} e P_{Verm} existe um binómio tempo / temperatura na gama de variação: T: 75-95 °C; t: 0.5 a 13 min, que permite eliminar de forma expressiva (≥ 2 ciclos Log) os níveis de contaminação inicial (Micro 30 °C), e inibir a actividade da POD, mantendo as características sensoriais semelhantes às do produto não pasteurizado.

5.1.1 Delineamento experimental

A hipótese H₁ foi testada através do delineamento Central Composto Rotacional considerando duas variáveis independentes (T, t) cujos intervalos de variação foram, T: 75 °C a 95 °C e t:0,5 a 13,0 min. Estes valores de intensidade térmica foram seleccionados com base em estudos prévios (Bastos *et al.*, (2006); Umme *et al.*, 1997; Ibarz *et al.*, 1999 e Valderrama *et al.*, 2001).

Tabela 4 – Matriz codificada e decodificada para a avaliação dos efeitos da pasteurização

Ensaio	Codificada		Decodificada	
	A	B	Temperatura (°C)	Tempo (Minutos:Segundos)
1	0,00	0,00	85,0	6:45
2	-1,00	1,00	92,1	2:19
3	1,00	-1,00	77,9	11:10
4	1,00	1,00	92,1	11:10
5	0,00	0,00	85,0	6:45
6	-1,00	-1,00	77,9	2:19
7	0,00	0,00	85,0	6:45
8	α	0,00	85,0	13:0
9	0,00	$-\alpha$	75,0	6:45
10	0,00	α	95,0	6:45
11	$-\alpha$	0,00	85,0	0:30
12	0,00	0,00	85,0	6:45

O delineamento considerado incluiu 12 ensaios independentes, com 4 pontos relativos ao planeamento factorial completo ($n_q=2,3,4$ e 6), 4 pontos estrela (\square) ($n_e=8$ a 11) e 4 repetições do ponto central ($n_0=1, 5, 7$ e 12) conforme se apresentada na Tabela 4 (níveis codificados e decodificados).

Os atributos em avaliação (variáveis dependentes) compreenderam as seguintes determinações: teor de sólidos solúveis (TSS), pH, compostos fenólicos totais (CFT), cor CIELab, actividade da peroxidase (POD), contagem de microrganismos a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ e avaliação sensorial.

Para cada uma das duas polpas foi ainda preparada uma amostra adicional que consistiu em polpa não pasteurizada ($P_{\text{Am_NP}}$ e $P_{\text{Verm_NP}}$) e que foi submetida ao mesmo protocolo analítico. Os resultados desta caracterização estão apresentados na Tabela A1 no Anexo 2 funcionam como valores de referência para contabilizar os efeitos da ausência de tratamento. Neste sentido serviram para o cálculo do TCD como referência inicial (L_0, a_0, b_0), correspondem a 100% do valor de actividade da POD e representam o nível de contaminação microbiológica inicial.

Após a preparação das polpas P_{Am} e P_{Verm} (cf. 4.2.1) e respectiva embalagem em sacos de plástico ($10\text{ cm} \times 10\text{ cm}$), cumpriram-se as condições de pasteurização definidas no delineamento (Tabela 4). Os tratamentos de pasteurização foram executados segundo o procedimento (cf. 4.2.2) e as amostras tratadas resultantes foram armazenadas ($5\text{ }^{\circ}\text{C}$) até serem analisadas. As amostras não pasteurizadas ($P_{\text{Am_NP}}$ e $P_{\text{Verm_NP}}$) foram preparadas, embaladas e armazenadas segundo os mesmos procedimentos até ao momento de análise.

5.1.2 Resultados e discussão

Para as polpas P_{Am} e P_{Verm} , os resultados da avaliação dos atributos: TCD, % de inibição da POD e % de redução microbiana, em função das variáveis independentes em estudo (T, t), foram ajustados a modelos polinomiais quadráticos de 2^{a} ordem, cuja ANOVA associada, respectivos coeficientes de regressão para as variáveis em jogo e interações, estão apresentados na Tabela A2 (Anexo 2). As representações gráficas para estas respostas geradas pelos modelos quadráticos, encontram-se nas Figuras 6 a 12, respectivamente e são discutidos de *per si*.

Os resultados relativos ao conteúdo fenólico total, teor de sólidos solúveis e pH são apresentados na Tabela A3 (Anexo 2), uma vez que não originaram modelos com o necessário ajuste independentemente da selecção de efeitos.

Cor CIELab – Polpa amarela

O modelo que expressa as variações TCD ((Eq. 8), apresentado graficamente na Figura 6, apresentou uma significância ($p>0,05$) favorável para a falta de ajuste (Tabela A2, Anexo 2), coeficientes de variância baixos ($r^2=0.42$ e $r^2_{ajust}=0,06$) e distando entre si mais de 0,1 unidade. Acresce que o erro puro do modelo não foi significativo ($p>0,05$). A falta de cumprimento dos critérios de ajuste adoptados (cf. 4.4.1) confere ao modelo um carácter não preditivo, no entanto, considerou-se ainda assim a discussão do mesmo, apenas com carácter indicativo.

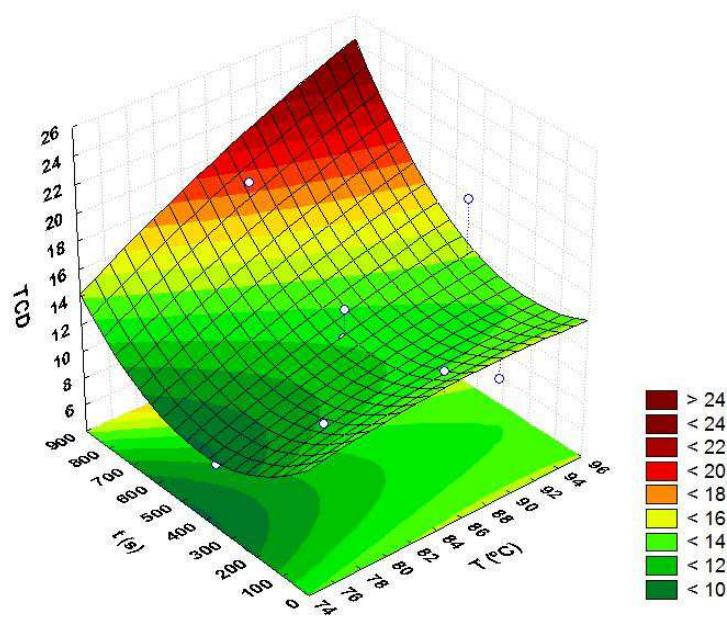


Figura 6 – Superfície de resposta para o parâmetro TCD (projecção no ponto central (85 °C a 387 s)

$$\text{TCD} = -29.9 + 1T - 0,006T^2 - 0,05t - 0,0005Tt \quad (\text{Eq. 8})$$

$$r^2 = 0.42 \quad r^2_{ajust} = 0,06 \quad r^2 - r^2_{ajust} = 0.36$$

Da Figura 6 verifica-se que valores de TCD superiores a 18 unidades, correspondentes a diferenças sensorialmente perceptíveis na cor das amostras face à condição não pasteurizada ocorreram na região triangular delimitada por valores de temperatura entre 78 °C a 96 °C e tempos a variar de 900 a 600 s (7 a 15 min). Na região de intensidade térmica complementar obtiveram-se valores de TCD inferiores a 12 unidades equivalentes à ausência de diferenças face à referência (F_{Am_NP}).

Inibição da POD – Polpa amarela

O modelo que expressa a inactivação da POD (Eq. 9), constante da Figura 7, apresentou, após eliminação dos efeitos t^2 e Txt , um ajuste adequado, expresso quer pela falta de ajuste não significativa e erro puro significativo (Tabela A2, Anexo 2) quer pelos coeficientes de variância próximos da unidade ($r^2 = 0.84$; $r^2_{ajust} = 0.77$) e diferença entre eles, inferior a uma décima.

A inactivação da POD (%) revelou-se, como era de esperar, directamente proporcional aos acréscimos da temperatura ($p < 0,05$) e tempo ($p < 0,05$) de tratamento, tendo sido alcançada a inactivação total dentro da gama de intensidade térmica testada (a cumprir uma das condições de validação da H_1). A inibição completa da POD é representada pela região mais escura (■ = 100) delimitada para valores de temperatura ≥ 85 °C e tempos superiores a 550 segundos. Todas as combinações tempo-temperatura no interior desta região são equivalentes.

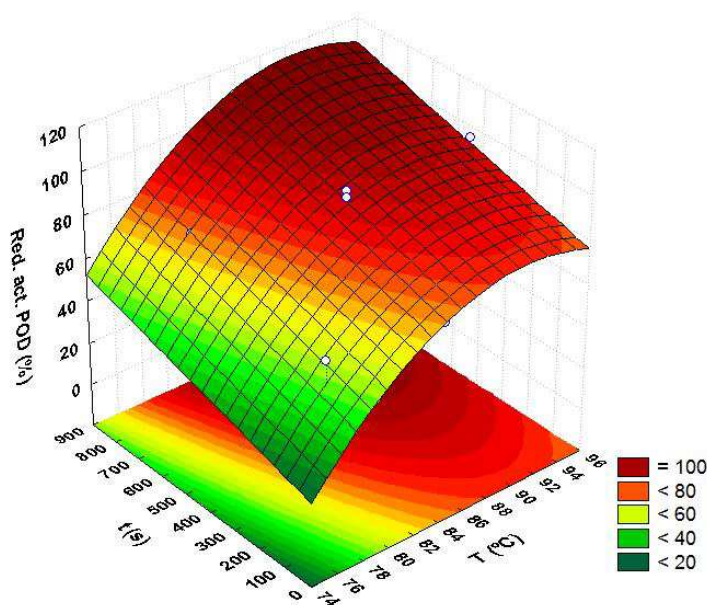


Figura 7 – Superfície de resposta para a inibição da peroxidase (%) (projecção no ponto central (85 °C a 387 segundos))

$$POD = -1741.65 + 40.16T - 0.22T^2 + 0,04t \quad (\text{Eq. 9})$$

$$r^2=0.84$$

$$r^2_{ajust}=0.77$$

$$r^2 - r^2_{ajust} = 0,06$$

Redução da carga de contaminação inicial – Polpa amarela

O modelo que expressa a redução da carga de contaminação inicial (Eq. 10), constante da Figura 8, apresentou, após eliminação dos efeitos t , t^2 e Txt , um ajuste adequado quer pela falta de ajuste ($p>0,05$) quer pelo erro puro ($p<0,05$) (Tabela A2, Anexo 2). Os coeficientes de variância não são elevados ($r^2 = 0.52$; $r^2_{ajust} = 0.42$) mas mantêm a diferença entre si pretendida, de ca de uma décima.

Da representação gráfica do modelo verifica-se que a redução da carga microbiana inicial (expresso pela variação das contagens de micro 30°C) (de ca de máximo de 3 ciclos Log, Tabela A1, Anexo 2) é proporcional ao aumento da temperatura, alcançando um valor de redução, de 2.5 ciclos Log para a temperatura de 86 °C, independentemente do tempo de tratamento.

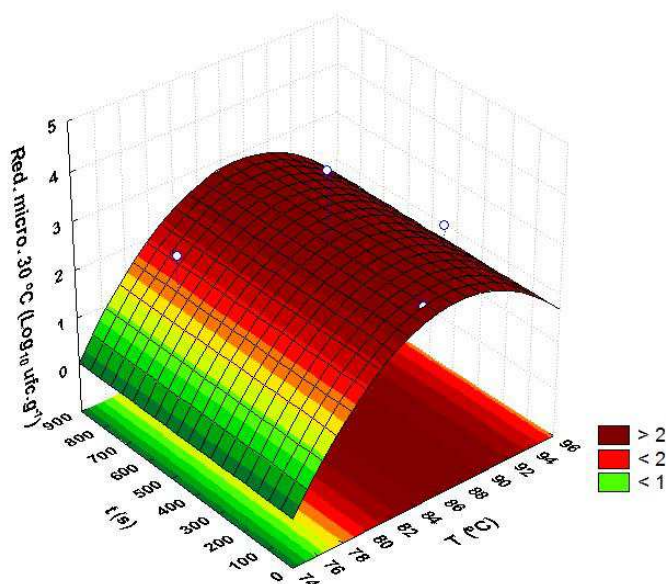


Figura 8 – Superfície de resposta para o parâmetro redução contagem de microrganismos 30 °C, projectadas no ponto central (85 °C a 387 s)

$$\text{Red micro } 30\text{ }^{\circ}\text{C} = -117.27 + 2.75T - 0.02T^2 \quad (\text{Eq.10})$$

$$r^2 = 0.52$$

$$r^2_{ajust} = 0.42$$

$$r^2 - r^2_{ajust} = 0.11$$

TSS, pH e CFT- Polpa amarela

Os resultados de TSS, pH e CFT nas amostras pasteurizadas são apresentados na Tabela A3, Anexo 2. Entre os diferentes tratamentos térmicos testados verificaram-se os seguintes intervalos de variação máximos: 11 a 13 °Brix, 3,7 a 4,1 unidades de pH e 100,3 a 124,0 mg

equivalente de ácido clorogénico, para TSS, pH e CFT, respectivamente. Com excepção do teor de sólidos solúveis os resultados não reflectem diferenças significativas ($p < 0.05$) entre si, nem quando comparados com os resultados de caracterização da amostra não pasteurizada (Tabela A1, Anexo 2). Em consequência conclui-se a ausência de efeitos significativos sobre os atributos pH e CFT. Para o teor de sólidos solúveis contabilizaram-se diferenças máximas de 2 °Brix (entre tratamentos e na comparação com a amostra não pasteurizada) podendo afectar a percepção do sabor doce. No entanto tratamentos com intensidades distintas (78 °C/ 2,19 min vs 85 °C/ 13 min) promoveram níveis de alteração para o TSS semelhantes (ca de 2 °Brix) reflectindo efeitos do T/t inconsistentes.

Prova organológica – Polpa amarela

Após tratamentos foi feita uma apreciação sensorial informal das amostras, referente aos atributos: cor, aroma, sabor bem como a uma apreciação global. Para qualquer das amostras pasteurizadas não ocorreram variações nos atributos em avaliação com implicação na rejeição das mesmas (apreciação global). Na Tabela 5 são apresentados registos fotográficos da amostra não pasteurizada, bem como das 12 amostras pasteurizadas.

Tabela 5 – Registo fotográfico da amostra não pasteurizada (NP) e das amostras pasteurizadas, com os respectivos binómios temperatura-tempo para a polpa P_{Ama}.


Ensaio	Binómios de pasteurização	Registos Fotográficos
NP	Não Pasteurizada	
1	85 °C/6:45 min	
2	92,1 °C/ 2:19 min	
3	77,9 °C / 11:10 min	
4	92,1 °C/ 11:10 min	
5	85,0 °C/ 6:45 min	

Tabela 5 (cont.) – Registo fotográfico da amostra não pasteurizada (NP) e das amostras pasteurizadas, com os respectivos binómios temperatura-tempo para a polpa P_{Ama}.

Ensaio	Binómios de pasteurização	Registos Fotográficos
6	77,9 °C / 2:19 min	
7	85,0 °C / 6:45 min	
8	85,0 °C / 13:0 min	
9	75,0 °C / 6:45 min	
10	95,0 °C / 6:45 min	
11	85,0 °C / 0:30 min	
12	85,0 °C / 6:45 min	

Condição de pasteurização – Polpa amarela

Da intersecção das soluções técnicas optimizadas para cada atributo modelizado foi seleccionada a **condição de pasteurização de 95 °C durante 10 min por cumprir todas as prerrogativas da H₁**.

Cor CIELab – Polpa vermelha

O modelo que expressa as variações TCD (Eq.11), na Figura 9, apresentou, após a eliminação dos efeitos T , T^2 , e do t^2 , um ajuste adequado, expresso quer pela falta de ajuste não significativa e erro puro significativo (Tabela A2, Anexo 2) quer pelos coeficientes de variância próximos da unidade ($r^2=0.86$ e $r^2_{ajust}=0,82$), distando entre si a menos de 0.1 unidade.

Da Figura 9 verifica-se que as variações de TCD são directamente proporcionais aos acréscimos do tempo e da temperatura da pasteurização, de 0 a 12 unidades para a gama de intensidades testada. Faz-se notar que para este tipo de polpa as variações de TCD foram menores face às que se verificaram para a polpa P_{Am} (de 12 a 24) (Figura 6).

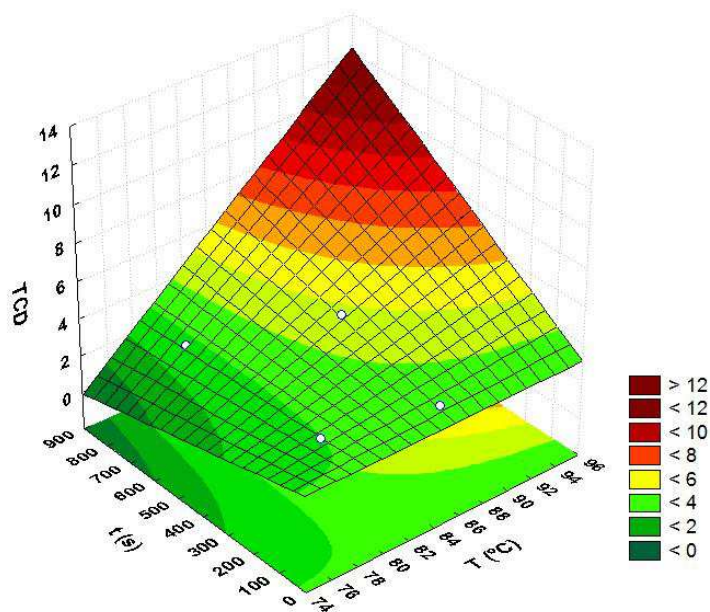


Figura 9 – Superfície de resposta para o parâmetro TCD, projectadas no ponto central (85 °C a 387 s)

$$\text{TCD} = 3.1 - 0.05t + 0.0001Tt \quad (\text{Eq.11})$$

$$r^2 = 0.86$$

$$r^2_{\text{ajust}} = 0.83$$

$$r^2 - r^2_{\text{ajust}} = 0.03$$

Inibição da POD – Polpa vermelha

O modelo que expressa a inactivação da POD (Eq. 12()), representado graficamente na Figura 10, apresentou, um ajuste adequado quer pela falta de ajuste ($p > 0.05$) quer pelo erro puro ($p < 0.05$) (Tabela A2, Anexo 2). Acresce ainda que a avaliação dos coeficientes de variância, próximos da unidade ($r^2 = 0.93$; $r^2_{\text{ajust}} = 0.87$) e a diferença entre os mesmos, cumpre os critérios pretendidos.

Por análise do modelo obtido, verifica-se que a inactivação total da POD (%) é representada pela região mais elevada da superfície (região mais escura ■ = 100), delimitada pelos valores de temperatura superiores a ca de 84 °C independentemente do tempo de tratamento.

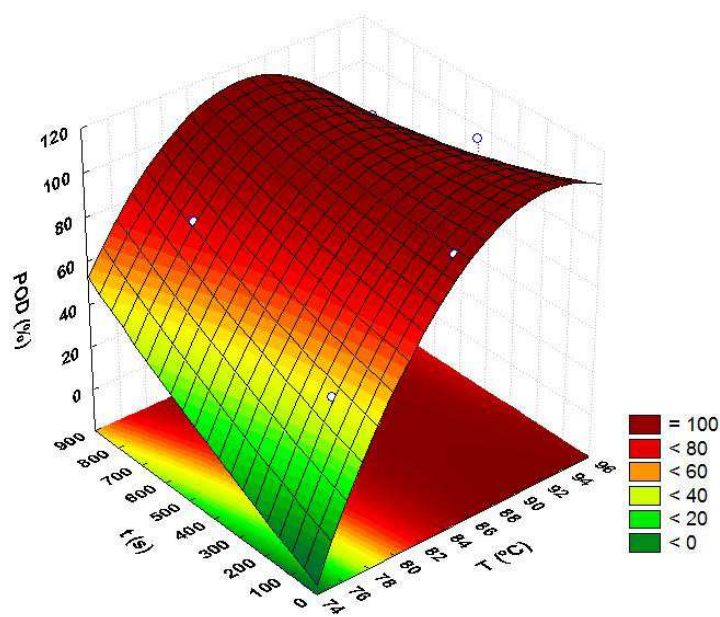


Figura 10 – Superfície de resposta para o parâmetro redução da actividade da peroxidase (%), projectadas no ponto central (85 °C a 387 s).

$$\text{POD (\%)} = -3369.41 + 76.05T - 0.42T^2 + 0.44t - 0.01Tt \quad (\text{Eq. 12})$$

$$r^2 = 0.93 \quad r^2_{\text{ajust}} = 0.87 \quad r^2 - r^2_{\text{ajust}} = 0.06$$

Redução da carga de contaminação inicial – Polpa vermelha

O modelo que expressa a redução da contaminação microbiana (Eq. 13), constante da Figura 11, apresentou, após eliminação dos efeitos T^2 , t , t^2 e Txt , um ajuste adequado quer pela falta de ajuste ($p > 0.05$) quer pelo erro puro ($p < 0.05$) (Tabela A2, Anexo 2). Os coeficientes de variância não são muito elevados ($r^2 = 0.68$; $r^2_{\text{ajust}} = 0.65$) mas mantêm a diferença entre si pretendida (< 0.1 unidade).

Da representação gráfica do modelo verifica-se que a redução da carga microbiana inicial (expresso pela variação das contagens de microrganismos a 30 °C) foi proporcional ao aumento da temperatura, independentemente do tempo de tratamento, alcançando um valor máximo de redução para as condições de pasteurização à $T > 94$ °C. Tendo em conta os valores de contaminação inicial para este tipo de polpa, de ca de 4 ciclos Log, Tabela A1 (Anexo 2), as condições referidas podem proporcionar a eliminação da microflora vegetativa.

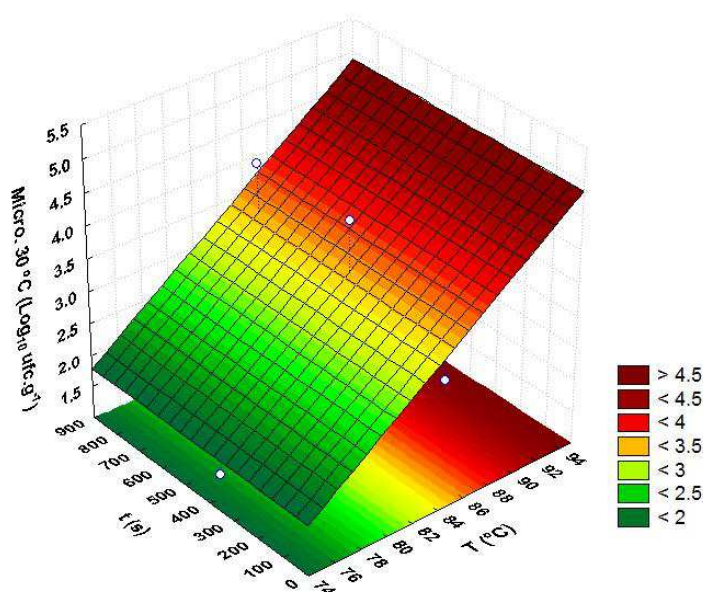


Figura 11 – Representação da superfície de resposta para o parâmetro redução da contagem de microrganismos a 30 °C, projectadas no ponto central (85 °C a 387 s).

$$\text{Redução de Micro 30 °C} = -9.081 + 0,147T \quad (\text{Eq.13})$$

$$r^2 = 0,68 \quad r^2_{\text{ajust}} = 0,65 \quad r^2 - r^2_{\text{ajust}} = 0,00003$$














TSS, pH e CFT – Polpa vermelha

Os resultados de pH, TSS e CFT nas amostras pasteurizadas são apresentados na Tabela A3, (Anexo 2). Entre os diferentes tratamentos térmicos testados verificaram-se os seguintes intervalos de variação máximos: 3,7 a 3,9 unidades de pH, 9,6 a 10,4 °Brix, e 138,2 a 160,6 mg EAC.100 g⁻¹, pH, TSS e CFT, respectivamente. Por comparação dos intervalos de variação máximos entre as amostras tratadas e destas com a amostra não pasteurizada (Tabela A1, Anexo 2), resultam amplitudes máximas de 0,2 unidades de pH, 0,8 °Brix e de 22,4 mg EAC.100 g⁻¹, constata-se que a gama de tratamentos em estudo não influenciou de forma significativa ($p < 0,05$) estas respostas.

Prova organológica – Polpa vermelha

Após tratamentos a apreciação sensorial das amostras e da amostra não pasteurizada não revelou alterações expressivas nos atributos em avaliação (sabor, cor e aroma). Na Tabela 6 são apresentados registos fotográficos da amostra não pasteurizada, bem como das 12 amostras pasteurizadas.

Tabela 6 – Registo fotográfico da amostra não pasteurizada (NP) e das amostras pasteurizadas, com os respectivos binómios temperatura-tempo para a polpa P_{Verm}.

Ensaio	Binómios de pasteurização	Registos Fotográficos
NP	Não Pasteurizada	
1	85 °C/6:45 min	
2	92,1 °C/ 2:19 min	
3	77,9 °C / 11:10 min	
4	92,1 °C/ 11:10 min	
5	85,0 °C/ 6:45 min	
6	77,9 °C / 2:19 min	
7	85,0 °C/ 6:45 min	
8	85,0 °C/ 13:0 min	
9	75,0 °C/ 6:45 min	
10	95,0 °C/ 6:45 min	
11	85,0 °C/ 0:30 min	
12	85,0 °C/ 6:45 min	

Solução de compromisso para a pasteurização Polpa vermelha

Da intersecção das soluções técnicas optimizadas para cada atributo modelizado foi seleccionada a **condição de pasteurização de 90 °C durante 10 min por cumprir todas as prerrogativas da H₁.**

5.1.3 Conclusão intercalar

As condições de pasteurização otimizadas para as polpas mostraram ser dependentes das formulações testadas. Os binómios seleccionados para a P_{Amarela} e P_{Vermelha} foram de 95 °C durante 10 minutos e de 90 °C durante 10 minutos, respectivamente. Estas condições garantiram para ambas as situações a inactivação microbiana (diminuição superior a 2 ciclos Log) e enzimática da POD (inactivação próximo de 100%), significativas ($p < 0.05$), com manutenção das características sensoriais semelhantes às do produto não pasteurizado no pós-processamento.

5.2 ESTUDO DAS CONDIÇÕES DE PASTEURIZAÇÃO POR UV-C

Com este ensaio pretendeu-se avaliar os efeitos de diferentes tratamentos de radiação UV-C na qualidade da polpa P_{Verm} testando a hipótese:

H₂ – Para a polpa P_{Verm}, existe uma intensidade de radiação UV-C na gama de 0,5 a 16 kJ/m² que promove uma eliminação dos níveis de contaminação inicial (Micro 30 °C) superior 2 ciclos Log, mantendo as características sensoriais do produto em níveis de aceitação semelhantes à do produto não tratado.

5.2.1 Delineamento experimental

Na polpa P_{Verm} a hipótese H₂ foi testada preparando 3 kg de polpa (ponto 4.2.1) e embalando o produto em sacos (10 x 15 cm) que se submeteram a três tratamentos de irradiação UV-C consecutivos, (procedimento ponto 4.2.3) para as doses estabelecidas de 0,5; 1; 2; 4; 8 e 16 kJ/m². Nas amostras irradiadas e não irradiada (controlo) foram efectuadas as seguintes determinações: teor de sólidos solúveis (TSS), pH, compostos fenólicos totais (CFT), cor CIELab, actividade da peroxidase (POD), contagem de microrganismos totais a 30 °C e análise sensorial. Os resultados obtidos foram submetidos a uma análise de variância.

5.2.2 Resultados e discussão

De seguida apresenta-se a discussão dos resultados para os atributos avaliados na polpa P_{Verm}, em função da intensidade de radiação, estes encontram-se representados nas Figuras 14 a 17, e na Tabela 7.

Redução da carga de contaminação inicial

Tal como se pode observar na Figura 12, a contaminação inicial, de ca de 4,1 ciclos logarítmicos (UFC/g) para os Micro 30 °C, não sofreu alterações significativas ($p>0,05$) face à amostra controlo não irradiada. Estes resultados demonstram que qualquer das doses testadas não exerceu efeito letal sobre os microrganismos contaminantes presentes nas amostras. De referir que esta metodologia não apresenta capacidade de penetração em alimentos sólidos, pelo que, não obstante a pouca espessura das embalagens utilizadas, estes resultados poderiam ser espectáveis.

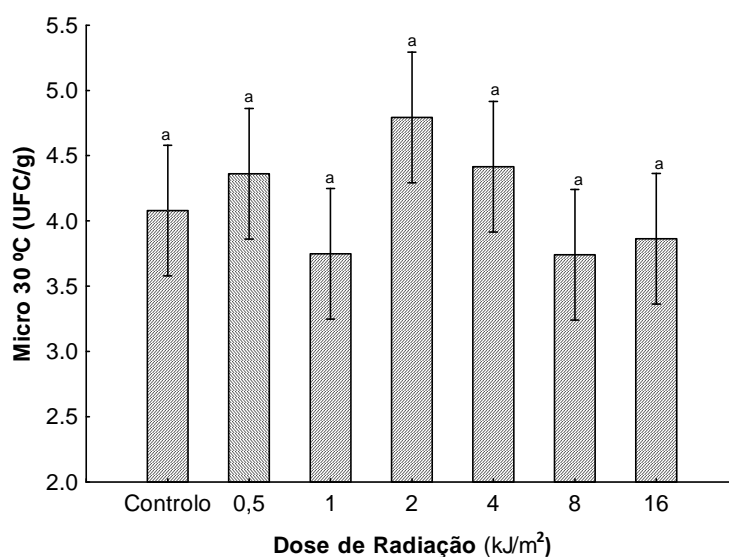
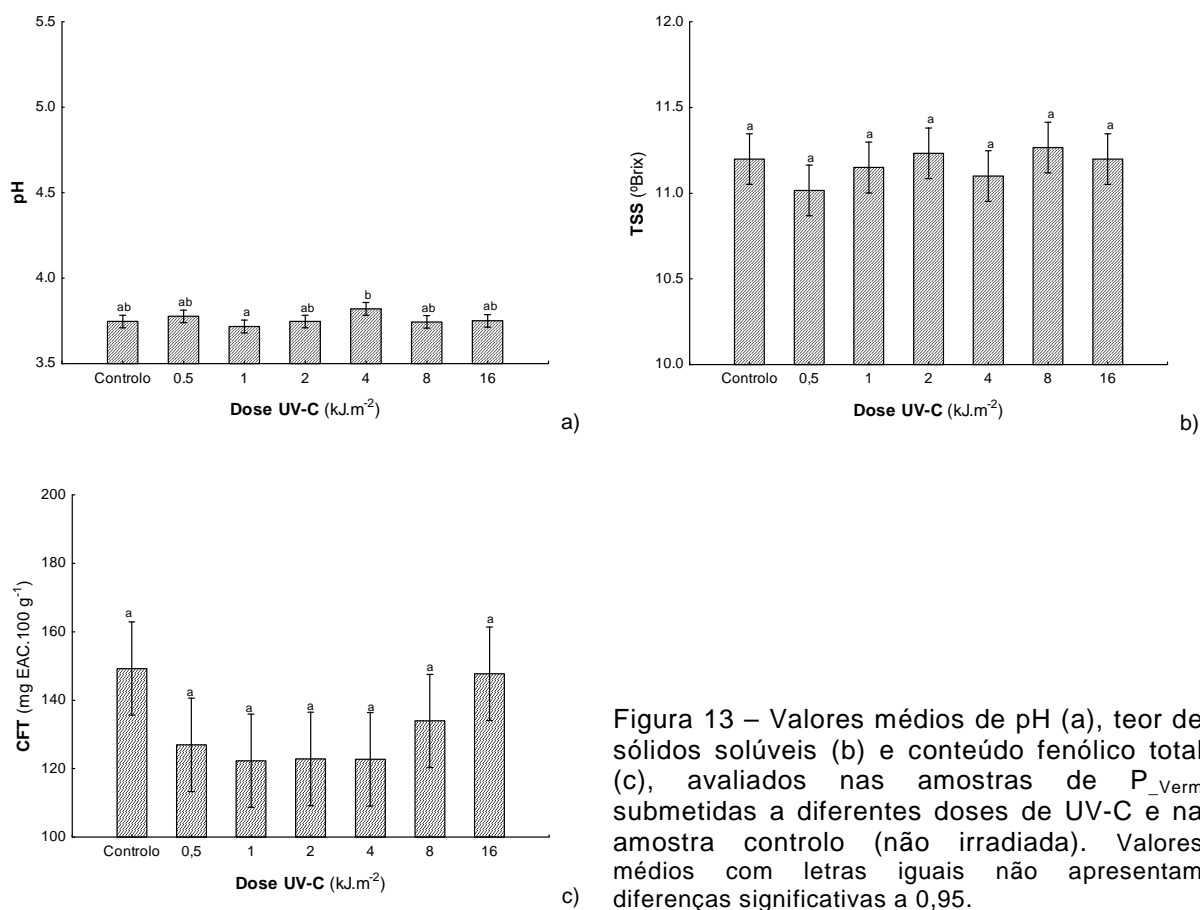


Figura 12 – Contagens de Micro 30 °C avaliados nas amostras de $P_{_Verm}$ submetidas a diferentes doses de UV-C e na amostra controlo (não irradiada). Valores médios com letras iguais não apresentam diferenças significativas a 0,95.

TSS, pH e CFT

Os valores médios de pH, TSS (°Brix), e CFT (mg EAC/100 g) avaliados nas amostras tratadas e controlo são apresentados nos gráficos Figura 13 a), b) e c), respectivamente. A respectiva comparação estatística revelou variações não significativas ($p>0,05$), quer para os valores de TSS quer para os valores de CFT. Para o pH a diferença assinalada como significativa ($p<0,05$), entre as amostras irradiadas a 1 vs 4 kJ/m², representou uma variação de apenas 0,1 unidade de pH, o que é de reduzido efeito prático. Em consequência pode-se concluir que na gama de intensidades testadas os tratamentos de irradiação UV-C não induziram efeitos relevantes sobre os atributos da qualidade avaliados.



Actividade da POD

As variações ($p > 0,05$) entre os valores médios de actividade da POD (U/ml) entre amostras tratadas por irradiação UV e controlo (Figura 14) mostram a ausência de efeitos de inibição da POD, independentemente da dose utilizada.

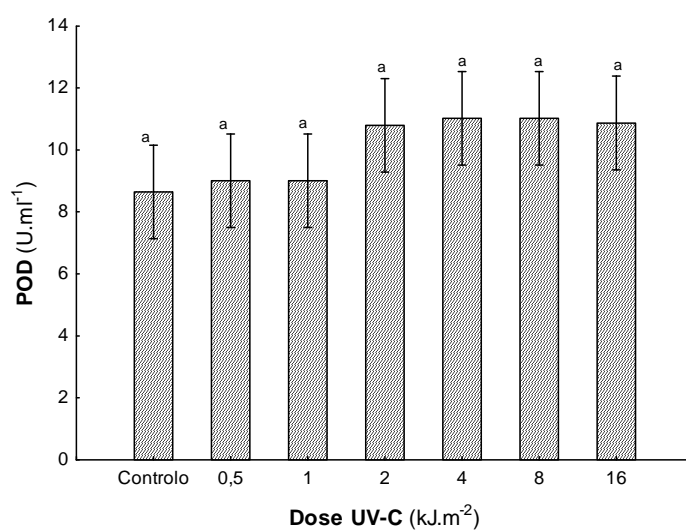


Figura 14 – Valores médios de actividade da POD nas amostras irradiadas de *P_Verm*, e, na amostra controlo (não irradiada). Letras iguais não representam diferenças significativas a 0,95.

Cor CIELab

As amostras de P_{Verm} submetidas a qualquer dos tratamentos de irradiação UV-C testados denotaram variações totais de cor (TCD) muito expressivas (superiores a 37 unidades) tal como se mostra na Tabela 7. Notar que a variação total de cor (TCD) máxima sob efeito da pasteurização térmica não excedeu as 12 unidades de variação para este índice (ver pág. 31).

Tabela 7 – Diferenças totais de cor (TCD) para as amostras de P_{Verm} pasteurizadas por radiação UV-C tendo como condição referência a amostra controlo (não tratada).

Id_Amostra	Dose UV-C / kJ.m ⁻²	TCD
0,5	0,5	43.5 ^{bc} ± 3.2
1	1	44.2 ^c ± 6.3
2	2	40.7 ^{abc} ± 4.6
4	4	37.9 ^a ± 1.0
8	8	37.4 ^a ± 0.7
16	16	38.5 ^{ab} ± 1.8

Nota: Valores médios (± desvio padrão) com letras iguais não apresentam diferenças significativas a 0,95.

Por outro lado é interessante verificar que os efeitos de alteração foram mais significativos ($p < 0,05$) nas amostras sujeitas às doses de radiação UV-C mais baixas (0,5 e 1 kJ/m² vs as restantes).

O efeito dos tratamentos de irradiação UV-C nas variações índice de escurecimento WI, tonalidade h°, e Croma C* são apresentadas na Figura 15 a), b), e c), respectivamente.

A avaliação do índice WI, sem variações significativas ($p > 0,05$) entre amostras (com excepção da amostra submetida a 0,5 kJ/m² denotando um menor escurecimento relativo) mostra que a alteração da cor não reporta ao escurecimento das mesmas.

A tonalidade da cor expressa pelo índice h° variou significativamente com a intensidade da dose aplicada, no entanto, não é possível definir uma tendência de variação. A título de exemplo valores de h° para as amostras irradiadas nas doses 1 e 16 kJ/m² são semelhantes ($p > 0,05$) entre si e significativamente diferentes ($p < 0,05$) na comparação com a amostra submetida a uma dose de 8 kJ/m².

Por outro lado as variações do Croma C* expressam uma tendência de variação na dependência da dose, tendo-se verificado a diminuição destes valores com o aumento da intensidade do tratamento. Neste sentido verificaram-se diferenças significativas face ao controlo para doses superiores a 2 kJ/m².

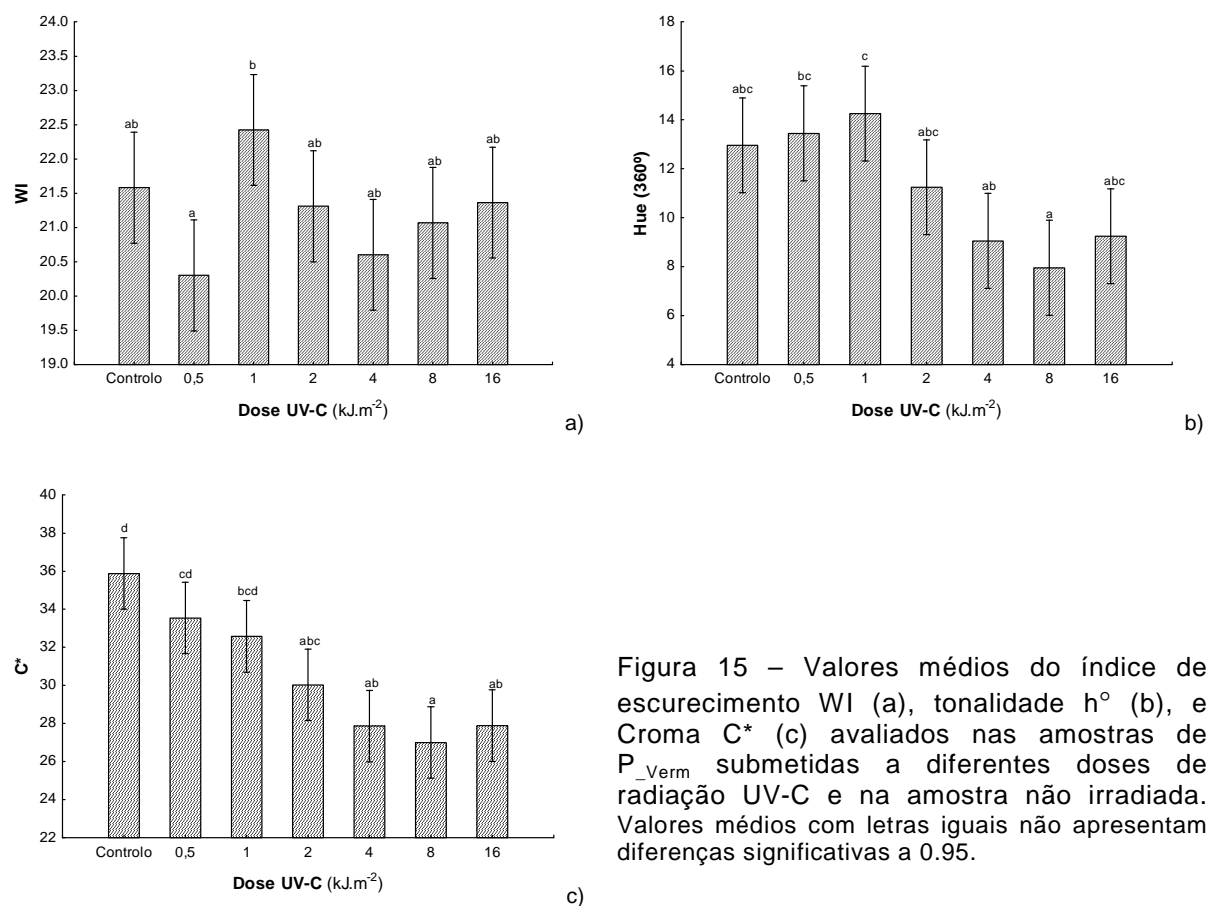


Figura 15 – Valores médios do índice de escurecimento WI (a), tonalidade h° (b), e Cromatidade C* (c) avaliados nas amostras de P_{Verm} submetidas a diferentes doses de radiação UV-C e na amostra não irradiada. Valores médios com letras iguais não apresentam diferenças significativas a 0.05.

5.2.3 Conclusão intercalar

Na gama de intensidades de radiação UV-C testada, a variar de 0,5 a 16 kJ/m², não se verificaram os efeitos esperados de redução da carga microbiana da polpa P_{Verm}.

5.3 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DAS POLPAS PASTEURIZADAS DURANTE A ARMAZENAGEM (5 °C)

Neste ensaio pretendeu-se avaliar os efeitos da pasteurização (condições T/t optimizadas) e da armazenagem (30 dias) em refrigeração (5 °C) na qualidade de duas polpas, amarela e vermelha, respectivamente identificadas como: P_{Am} e P_{Verm}.

A hipótese subjacente foi:

H₃ – A pasteurização pelo calor de duas polpas (95 °C/10 min e 90 °C/10 min, para a amarela e vermelha, respectivamente) permite-lhes prolongar de forma expressiva o período de vida útil em refrigeração (5 °C) face à ausência de tratamento.

5.3.1 Delineamento Experimental

Foi implementado um delineamento factorial completo a dois factores, cada um com dois níveis (Tabela 8), testando-se para o efeito: aplicação ou não do tratamento de pasteurização pelo calor e tipo de formulação.

Tabela 8 – Factores (F), respectivos níveis (n) e identificação.

n \ F	Tipo de conservação	Tipo de formulação
1	P [Com Pasteurização]	F ₁ [50% pêra: 50%ananás]
2	NP [Sem pasteurização]	F ₂ [66% pêra: 4% beterraba: 30% morango: 1,5% sumo de limão]

A combinação completa resultou em 4 amostras identificadas como: P_{Am_P}, P_{Am_NP}, P_{Verm_P} e P_{Verm_NP}.

Efectuou-se a preparação das polpas P_{Am} e P_{Verm} (ca de 4 kg cada) (cf.4.2.1), seguindo-se o embalamento das mesmas em sacos (8; ca de 100 g) por tipo de amostra e por dia de análise (5 tempos). As amostras do tipo **P** foram pasteurizadas após embalagem segundo o procedimento descrito no ponto 4.2.2. A quantidade de matérias-primas exigida para cumprir o referido delineamento obrigou ao desfasamento no tempo dos ensaios de avaliação das duas polpas (P_{Am} e P_{Verm}).

Nas amostras foram avaliadas as seguintes determinações/avaliações: pH, TSS, Cor CIELab, CFT, actividade da POD, contagem de microrganismos a 30 °C e análise sensorial. O período de armazenagem de ca de 30 dias teve as seguintes datas de análise: [0, 3, 7, 15 e 30] e, [0, 4, 7, 19 e 32], para as polpas P_{Am} e P_{Verm}, respectivamente. A avaliação microbiológica não foi efectuada na segunda data considerada (ao final de 3 e de 4 dias

para polpas P_{Am} e P_{Verm} , respectivamente). O tratamento estatístico dos resultados incluiu a análise de variância ANOVA.

5.3.2 Resultados e discussão

pH

A evolução do valor médio de pH das amostras ao longo da armazenagem encontra-se apresentada na Figura 16.

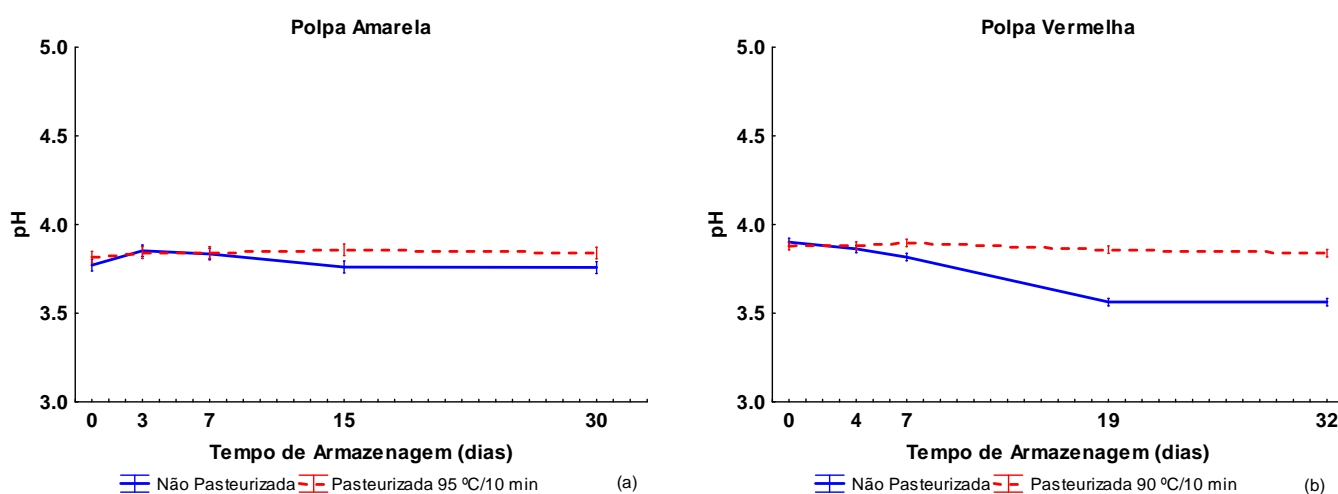


Figura 16 – Evolução do valor médio de pH ao longo da armazenagem (5 °C) nas amostras $P_{Am_}$ (a) $P_{Verm_}$ (b), não pasteurizadas (NP) e pasteurizadas (P). Bandas de variação correspondem aos intervalos de confiança 95%.

Da Figura 16 verifica-se que a pasteurização não influenciou o valor de pH ($p < 0,05$) nos dois tipos de polpas P_{Am_P} e P_{Verm_P} (comparação de amostras P vs NP , no dia 0 de armazenagem) sendo que as diferenças não excederam 0,1 unidades de pH para a P_{Am} e de 0,3 unidades de pH para a P_{Verm} . Decorre ainda da observação da Figura 16 que ao longo da armazenagem se mantiveram os valores de pH iniciais para ambas as polpas (Figura 16 (a) e (b)). Mesmo para a P_{Verm} em que se verificou um decréscimo de 0,3 unidades de pH entre as amostras P e NP (ao final de 19 dias) é discutível a significância atribuída ($p < 0,05$) tendo em conta que variações desta ordem não representam qualquer significado prático. Perante isto, considera-se que este atributo permaneceu sem variações expressivas após processamento e durante a armazenagem, independentemente do tratamento de pasteurização aplicado (95 °C/10min e 90 °C/10min).

TSS

Na Tabela 9 apresentam-se os valores médios do teor de sólidos solúveis (TSS) das amostras P_{Am_NP} e P_{Am_P}, ao longo do período de armazenagem a 5 °C.

Tabela 9 – Valores médios (\pm DP) de TSS nas amostras P_{Am_NP} e P_{Am_P} ao longo da armazenagem a 5 °C.

Id. Amostra	Tempo de Armazenagem (dias)	TSS (°Brix)
P _{Am_NP}	0	12,4 ^{ab} \pm 0,15
	3	11,8 ^{ab} \pm 0,84
	7	12,0 ^{ab} \pm 0,82
	15	12,2 ^{ab} \pm 1,13
	30	12,6 ^b \pm 0,51
	0	12,1 ^{ab} \pm 0,38
P _{Am_P}	3	11,8 ^{ab} \pm 0,70
	7	12,1 ^{ab} \pm 0,63
	15	12,1 ^{ab} \pm 0,87
	30	12,7 ^a \pm 0,20

Letras diferentes representam diferenças significativas para p=0.05

Da análise da Tabela 9, verifica-se que os efeitos da pasteurização bem como da armazenagem, nos valores de TSS das amostras em estudo foram reduzidos tendo-se registado variações máximas entre tipos de amostras de 0,3 °Brix.

Os valores médios do teor de sólidos solúveis (TSS) para a P_{Verm_NP} e P_{Verm_P}, são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 – Valores médios (\pm DP) de TSS nas amostras P_{Verm_NP} e P_{Verm_P} ao longo da armazenagem a 5 °C

Id. Amostra	Tempo de Armazenagem (dias)	TSS (°Brix)
P _{Verm_NP}	0	10,7 ^{ab} \pm 0,32
	4	10,2 ^a \pm 0,25
	7	10,4 ^a \pm 0,18
	19	10,6 ^{ab} \pm 0,21
	32	10,6 ^{ab} \pm 0,20
	0	10,5 ^a \pm 0,17
P _{Verm_P}	4	10,7 ^{ab} \pm 0,39
	7	10,7 ^{ab} \pm 0,43
	19	10,7 ^{ab} \pm 0,19
	32	11,1 ^b \pm 0,20

Letras diferentes representam diferenças significativas para p=0.05

Da Tabela 10 é possível constatar que para a P_{Verm} o efeito da pasteurização não originou variações neste atributo para além do valor de 0,2 °Brix. De igual modo, registou-se a tendência para a manutenção do TSS ao longo da armazenagem para ambas as amostras (variações máximas de 0,5 °Brix).

CFT

Os resultados médios da evolução dos compostos fenólicos totais (unidades) das diferentes amostras, constam na Figura 17.

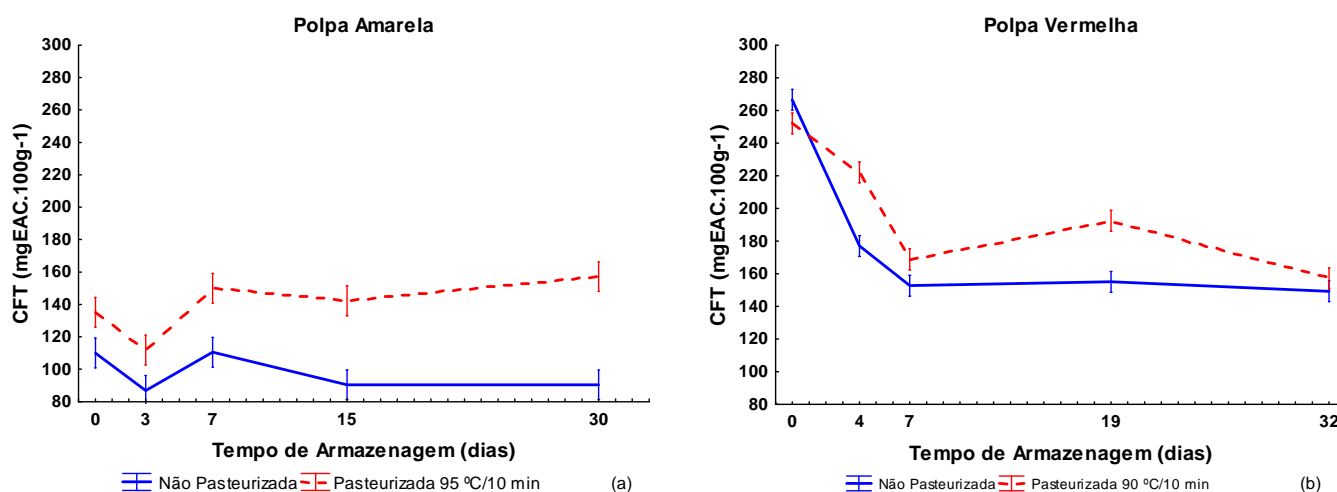


Figura 17 – Evolução dos CFT ao longo da armazenagem (5 °C) nas amostras P_{Am}_(a) P_{Verm}_(b), não pasteurizadas (NP) e pasteurizadas (P). Bandas de variação correspondem aos intervalos de confiança 95%.

Verifica-se (Figura 17) que para ambas as amostras (comparação ao dia 0) os valores médios de CFT não revelaram diferenças significativas em função da aplicação da pasteurização.

Para a polpa amarela (Figura 17 (a)) verifica-se que até ao dia 15, não ocorreram diferenças significativas entre as amostras P_{Am_NP} e P_{Am_P}. No entanto, a partir dessa data e até ao final do período testado os CFT de ambas foram significativamente diferentes ($p < 0,05$) tendo a P_{Am_P} revelado valores superiores em ca de 50 mg EAC.100 g⁻¹ face à congénere não pasteurizada.

Para a polpa vermelha ocorrem variações significativas no CFT com a armazenagem, verificando-se uma diminuição destes compostos, em ca de 100 mg EAC.100 g⁻¹, durante os primeiros 7 dias e, a manutenção ($p > 0,05$) dos valores obtidos ao dia 7 até ao final do período considerado. No entanto, não se registaram diferenças significativas entre estas amostras declarando a ausência de efeitos acometidos à pasteurização.

POD

Na Figura 18, apresentam-se os resultados da actividade enzimática da POD (U/ml) obtidos ao longo da armazenagem, para as polpas em estudo.

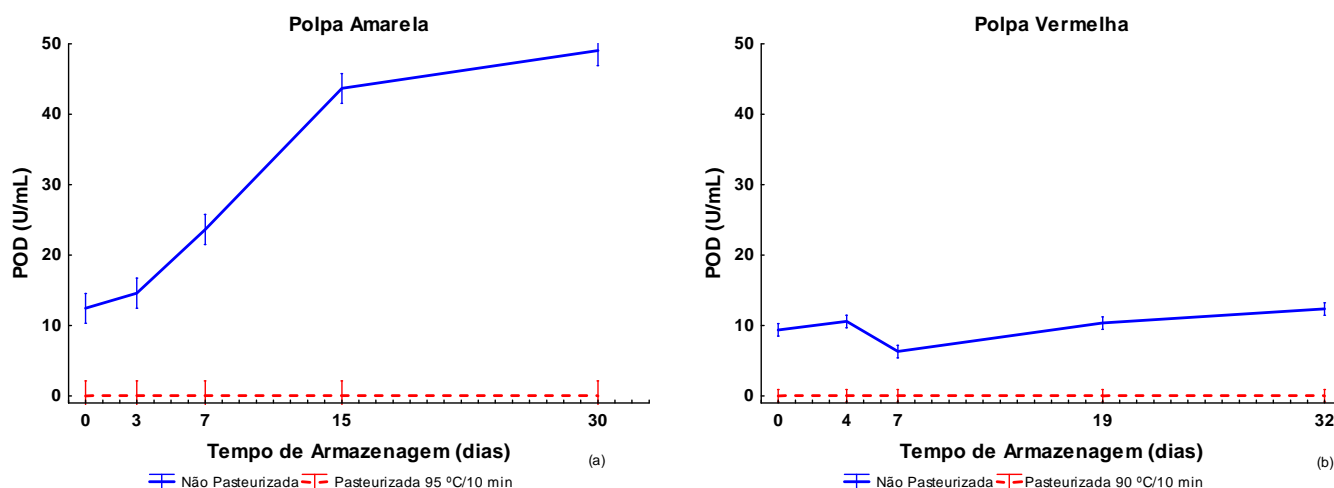


Figura 18 – Valores médios de actividade de POD (unidades) ao longo armazenagem (5 °C) nas amostras P_{Am}(a) P_{Verm}(b), não pasteurizadas e pasteurizadas. Bandas de variação correspondem aos intervalos de confiança 95%.

Por análise dos gráficos da Figura 18, constata-se que a pasteurização efectuada revelou-se bastante eficaz na inibição da POD em ambos os tipos de polpas (ca de zero). Nas amostras não pasteurizadas P_{Am_NP} e P_{Verm_NP} ao dia 0, obtiveram-se valores médios de 12 U/ml e 9 U/ml respectivamente.

Durante o período total de armazenamento (Figura 18), verificou-se a ausência de actividade da enzima POD para as amostras pasteurizadas P_{Am_P} e P_{Verm_P}, traduzindo um efeito de desnaturação irreversível na sequência dos tratamentos de pasteurização. Nas amostras não pasteurizadas de polpa amarela, verificou-se um aumento significativo ($p < 0,05$) da actividade enzimática até ao dia 15, correspondente ao valor de 45 U/ml sem alteração significativa até ao término do período de armazenagem considerado. Na polpa vermelha a evolução da actividade da POD nas amostras não pasteurizadas ao longo do período de armazenagem não revelou variações significativas ($p > 0,05$) (na gama de 9 a 12 U/ml).

CorCIELab

°Hue

Os resultados da evolução da tonalidade da cor °Hue das duas polpas encontram-se representados graficamente na Figura 19.

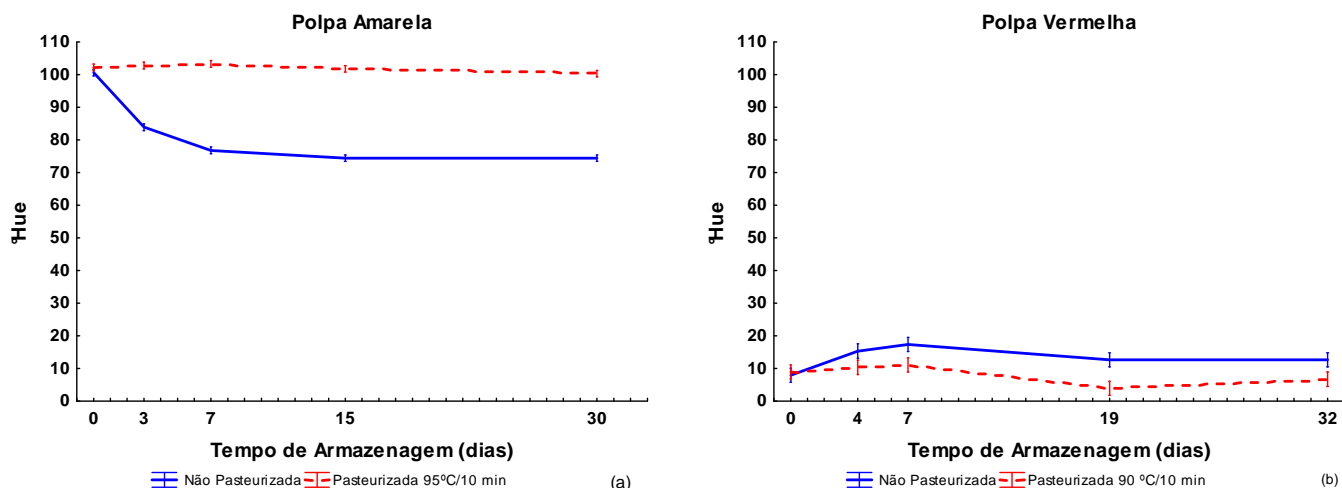


Figura 19 – Parâmetro °Hue ao longo da armazenagem (5 °C) nas amostras P_{Am} (a) P_{Verm} (b), não pasteurizadas e pasteurizadas. Bandas de variação correspondem aos intervalos de confiança 95%.

É possível verificar na Figura 19 que o tratamento térmico de pasteurização não exerceu um efeito directo e significativo no dia do processamento na tonalidade apresentada por ambas as polpas

Contudo, em ambos os tipos de polpas na condição não pasteurizada, verificaram-se variações de tonalidade ao longo do período de armazenagem. Na polpa amarela constatou-se uma diminuição dos valores de h° , com significado ($p < 0,05$) no intervalo entre os dias 0 e 7, seguindo-se a manutenção ($p > 0,05$) dos registos até ao último dia. A diminuição dos valores de h° traduz-se numa variação da tonalidade do amarelo para o castanho.

A polpa vermelha denotou um ligeiro aumento da tonalidade até ao 7º dia pós-processamento, mantendo os registos sem variações ($p > 0,05$) até ao final do período. Esta evolução traduziu-se visualmente numa alteração da tonalidade de rosa para o vermelho.

As diferenças de tonalidade registadas nas amostras não pasteurizadas podem estar relacionadas com a continuidade das oxidações enzimáticas, tal reflectindo a actividade da POD.

Índice de escurecimento WI

Os valores médios obtidos para o índice de escurecimento (WI) nas diferentes amostras encontram-se apresentados na Tabela 11.

Pela análise da Tabela 11, observa-se que os valores de WI entre amostras pasteurizadas e não pasteurizadas não diferem significativamente ($p > 0,05$), declarando a ausência de efeito da pasteurização no nível de escurecimento da polpa amarela ao dia 0.

Ao longo da armazenagem a polpa pasteurizada (P_{Am_P}), não sofreu diferenças significativas ao nível do índice de escurecimento, traduzindo a eficácia da pasteurizada aplicada, uma vez que demonstrou eficácia na inibição da POD. Contrariamente na polpa amarela não pasteurizada P_{Am_NP} , é perceptível o aumento de escurecimento no período inicial de 3 dias (diminuição significativa de WI).

Tabela 11 – Valores médios (\pm DP) de WI das amostras P_{Am_NP} e P_{Am_P} ao longo da armazenagem (5 °C)

Id. Amostra	Tempo de Armazenagem (dias)	WI
P_{Am_NP}	0	54,6 ^c \pm 1,18
	3	45,7 ^a \pm 3,87
	7	46,0 ^a \pm 2,20
	15	45,3 ^a \pm 3,79
	30	45,3 ^a \pm 2,46
	0	51,5 ^{bc} \pm 2,03
P_{Am_P}	3	48,1 ^{ab} \pm 2,15
	7	51,5 ^{bc} \pm 2,97
	15	51,7 ^{bc} \pm 6,31
	30	48,6 ^{ab} \pm 2,26

Letras diferentes representam diferenças significativas para $p=0.05$

Tendo em conta a relação destes resultados com os níveis de actividade da POD as alterações de cor podem ser justificadas pelas oxidações enzimáticas que têm lugar durante a armazenagem.

Tabela 12 – Valores médios (\pm DP) de WI das amostras P_{Verm_NP} e P_{Verm_P} ao longo da armazenagem (5 °C)

Id. Amostra	Tempo de Armazenagem (dias)	WI
P_{Verm_NP}	0	18,1 ^a \pm 0,73
	4	20,7 ^{abc} \pm 1,60
	7	20,0 ^a \pm 2,80
	19	20,4 ^{ab} \pm 2,13
	32	20,4 ^{ab} \pm 0,89
	0	24,2 ^d \pm 0,83
P_{Verm_P}	4	23,3 ^{cd} \pm 2,34
	7	22,8 ^{bcd} \pm 1,69
	19	20,8 ^{abc} \pm 2,32
	32	22,8 ^{bcd} \pm 0,89

Letras diferentes representam diferenças significativas para $p=0.05$

Pela análise da Tabela 12, verifica-se que a pasteurização não originou alterações significativas no nível de escurecimento da polpa vermelha imediatamente após o tratamento térmico.

Por observação da evolução do índice de escurecimento ao longo do período de armazenagem, verificam-se variações significativas ($p<0,05$) entre amostras pasteurizadas e

não pasteurizadas. No entanto, variações desta ordem de grandeza não originam diferenças perceptíveis visualmente (dados não apresentados) podendo este facto ser explicado pela tonalidade escura desta polpa.

Índice de consistência

A evolução dos valores médios do índice de consistência e de escoamento registados nas amostras ao longo da armazenagem são apresentados nas Tabelas 13 e 14 para as polpas amarela e vermelha, respectivamente.

Tabela 13 – Valores médios (\pm DP) do índice de consistência e de escoamento das amostras P_{Am_NP} e P_{Am_P} ao longo da armazenagem (5 °C).

Id. Amostra	Tempo de Armazenagem (dias)	k (Índice de consistência) Pa.s ⁿ	n (Índice de escoamento)
P _{Am_NP}	0	10,2 ^{ab} \pm 1,27	0,07 ^a \pm 0,05
	3	7,2 ^a \pm 0,64	-0,08 ^a \pm 0,09
	7	7,1 ^a \pm 0,41	0,11 ^{ab} \pm 0,05
	15	7,5 ^a \pm 1,30	0,10 ^{ab} \pm 0,06
	30	7,5 ^a \pm 0,96	0,10 ^{ab} \pm 0,06
P _{Am_P}	0	11,6 ^b \pm 0,36	0,07 ^a \pm 0,03
	3	7,9 ^a \pm 0,89	0,43 ^b \pm 0,23
	7	8,0 ^a \pm 0,57	0,15 ^{ab} \pm 0,05
	15	8,4 ^{ab} \pm 1,04	0,08 ^a \pm 0,06
	30	7,8 ^a \pm 0,96	0,08 ^a \pm 0,06

Letras diferentes representam diferenças significativas para p=0.05

Tabela 14 – Valores médios (\pm DP) do índice de consistência e de escoamento das amostras P_{Verm_NP} e P_{Verm_P} ao longo da armazenagem (5 °C).

Id. Amostra	Tempo de Armazenagem (dias)	k (Índice de consistência) Pa.s ⁿ	n (Índice de escoamento)
P _{Verm_NP}	0	9,1 ^a \pm 1,49	0,46 ^b \pm 0,08
	4	12,1 ^a \pm 1,98	0,25 ^a \pm 0,06
	7	10,8 ^a \pm 0,49	0,31 ^{ab} \pm 0,01
	19	9,0 ^a \pm 0,59	0,37 ^{ab} \pm 0,08
	32	8,0 ^a \pm 0,93	0,37 ^{ab} \pm 0,08
P _{Verm_P}	0	11,1 ^a \pm 1,54	0,36 ^{ab} \pm 0,01
	4	12,3 ^a \pm 0,83	0,38 ^{ab} \pm 0,02
	7	11,3 ^a \pm 1,19	0,27 ^a \pm 0,02
	19	11,6 ^a \pm 0,34	0,38 ^{ab} \pm 0,02
	32	12,3 ^a \pm 0,93	0,38 ^{ab} \pm 0,02

Letras diferentes representam diferenças significativas para p=0.05

Da Tabela 13 verifica-se que na P_{Am} só a comparação entre os dias 0 e 3 é se verificaram diferenças de consistência significativas (p<0.05). Não é provável que a diminuição da consistência nesta amostra P_{Am_P} (condição pasteurizada) possa ser associada à eventual actividade enzimática (eg. despolimerases) uma vez que o efeito da pasteurização foi

efectivo na inactivação do grupo POD considerado que é o grupo enzimático de maior termorresistência.

Para todas as outras amostras de polpa (Tabela 13 e 14) as variações de consistência em comparação não verificaram diferenças significativas sob efeitos da pasteurização e da armazenagem.

Relativamente ao índice de escoamento verificou-se que as amostras em estudo se tratavam de fluidos não *newtonianos* reofluidificantes dado que os valores de n inferiores a 1 (Tabela 13 e 14). Neste sentido a ausência de efeitos da pasteurização e armazenagem nos valores de consistência e de escoamento das polpas afigura-se como a tendência geral.

Redução da carga de contaminação inicial

Na Figura 20 apresenta-se evolução das contagens microbiológicas médias de Micro. 30 °C para as polpas, amarela e vermelha, ao longo da armazenagem (5 °C), respectivamente.

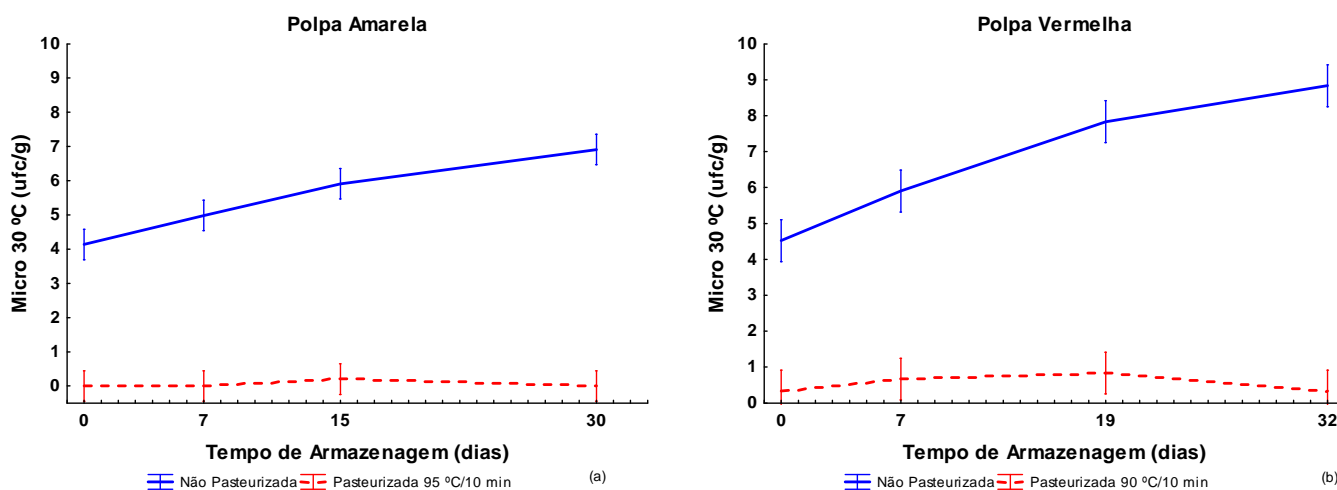


Figura 20 – Contagens de microrganismos aeróbios a 30 °C (Micro 30 °C) efectuados ao longo da armazenagem (5 °C) das polpas P_Am_(a) P_Verm_(b), não pasteurizadas e pasteurizadas. Bandas de variação correspondem aos intervalos de confiança 95%.

A redução inicial da carga de Micro. 30 °C foi de cerca de 4 ciclo Log para ambas as polpas (P_Am_P e P_Verm_P) demonstrando que a pasteurização para as condições optimizadas foi significativa ($p < 0.05$) na inactivação microbiana (Figura 20 (a) e (b)).

Ao longo da armazenagem verificou-se um desenvolvimento contínuo de microrganismos aeróbios a 30 °C, para ambas as polpas P_Am_NP e P_Verm_NP (Figura 20 (a) e (b)). Da análise da Figura 20 consta-se um aumento de carga microbiana de 3 ciclos Log e de 5 ciclos Log no final do período testado, para a polpa amarela e vermelha, respectivamente. Por seu lado

as polpas pasteurizadas não denotaram qualquer tipo de evolução nas contagens microbiológicas ao longo do armazenamento, confirmando-se a eficiência dos tratamentos de pasteurização aplicados.

Análise Sensorial

Nas Tabelas 15 e 16, apresentam-se as classificações médias obtidas pela análise sensorial para os atributos cor, sabor e cheiro das polpas amarela e vermelha ao longo do período de armazenagem (5 °C).

Tabela 15 – Resultados médios (\pm DP) dos atributos de análise sensorial (cor, sabor e cheiro) das amostras P_{Am_NP} e P_{Am_P} ao longo da armazenagem (5 °C).

Id._Amostra	Tempo de Armazenagem (dias)	Cor	Sabor	Cheiro
P _{Am_NP}	0	4,00 ^{cd} \pm 0,67	4,47 ^c \pm 0,77	4,63 ^b \pm 0,96
	3	2,63 ^{ab} \pm 1,01	2,74 ^{ab} \pm 1,04	2,63 ^a \pm 1,07
	7	3,26 ^{bc} \pm 0,87	3,31 ^b \pm 1,00	2,73 ^a \pm 1,05
	15	2,58 ^{ab} \pm 0,51	2,63 ^{ab} \pm 0,68	2,74 ^a \pm 1,05
	30	2,05 ^a \pm 0,70	1,63 ^a \pm 0,76	1,63 ^a \pm 0,68
P _{Am_P}	0	5,10 ^{de} \pm 0,87	5,0 ^c \pm 1,0	4,63 ^b \pm 1,38
	3	4,47 ^{de} \pm 1,47	5,42 ^c \pm 0,69	5,42 ^b \pm 0,77
	7	5,37 ^e \pm 0,83	5,37 ^c \pm 0,76	5,21 ^b \pm 0,98
	15	5,37 ^e \pm 0,83	5,37 ^c \pm 0,76	5,21 ^b \pm 0,98
	30	5,16 ^{de} \pm 0,76	5,16 ^c \pm 0,90	4,73 ^b \pm 0,80

Dentro da mesma coluna, letras diferentes representam diferenças significativas para $p=0,05$.

Tabela 16 – Resultados médios (\pm DP) dos atributos de análise sensorial (cor, sabor e cheiro) das amostras P_{Verm_NP} e P_{Verm_P} ao da armazenagem (5 °C).

Id._Amostra	Tempo de Armazenagem (dias)	Cor	Sabor	Cheiro
P _{Verm_NP}	0	5,21 ^c \pm 0,79	4,63 ^c \pm 0,50	4,84 ^c \pm 0,69
	4	3,00 ^{ab} \pm 1,00	2,68 ^{ab} \pm 0,75	4,63 ^c \pm 0,60
	7	3,05 ^{ab} \pm 1,27	3,00 ^b \pm 0,82	3,52 ^b \pm 0,84
	19	2,47 ^a \pm 0,70	2,47 ^{ab} \pm 0,51	2,63 ^{ab} \pm 0,50
	32	2,42 ^a \pm 0,61	1,74 ^a \pm 0,65	1,84 ^a \pm 0,76
P _{Verm_P}	0	5,16 ^c \pm 0,50	5,37 ^c \pm 0,68	5,37 ^c \pm 0,68
	4	5,16 ^c \pm 0,83	4,90 ^c \pm 1,20	5,16 ^c \pm 0,68
	7	4,37 ^{bc} \pm 1,46	5,10 ^c \pm 0,81	5,21 ^c \pm 0,71
	19	4,37 ^{bc} \pm 1,46	5,10 ^c \pm 0,81	5,21 ^c \pm 0,71
	32	4,05 ^{bc} \pm 1,27	4,63 ^c \pm 0,68	5,05 ^c \pm 0,62

Dentro da mesma coluna, letras diferentes representam diferenças significativas para $p=0,05$

Da análise das Tabelas 15 e 16, é possível constatar que não houve diferenças significativas entre as classificações atribuídas aos diferentes tipos de amostras (P_{AM_P} vs.

P_{Am_NP}, e P_{Verm_NP} vs. P_{Verm_P}) logo após processamento, não tendo sido perceptível aos provadores efeitos associados à pasteurização.

A partir do 7º dia, verificaram-se diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as amostras pasteurizadas e não pasteurizadas, para todos os atributos avaliados. As classificações atribuídas à polpa amarela não pasteurizada (P_{Am_NP}) traduzem-se num aumento dos níveis de escurecimento (classificações de cor 3) e na perda de sabor e cheiro característicos (classificações do sabor e cheiro < 3). Para a polpa vermelha não pasteurizada (P_{Verm_NP}) os resultados traduzem igualmente alterações de sabor e aroma (classificações do sabor e cheiro < 3) bem como da percepção da cor (classificações de cor < 3). As polpas pasteurizadas, pelo contrário, não sofreram alterações ($p > 0,05$) nas classificações médias que lhes foram atribuídas traduzindo a retenção das características sensoriais durante a armazenagem.

5.3.3 Conclusão intercalar

As polpas submetidas aos tratamentos de pasteurização revelaram uma maior estabilidade durante o período de armazenagem considerado, confirmando a hipótese H₃.

6 Composição centesimal das polpas Amarela e Vermelha

Na Tabela 17 apresenta-se os resultados da análise centesimal para as polpas P_{Am} e P_{Verm}, pelos valores das análises químicas realizadas (cf. 4.3.9) foi possível calcular o valor energético das mesmas.

Tabela 17 – Resultados análise centesimal para as polpas P_{Am} e P_{Verm}.

Polpa	P _{Am}	P _{Verm}
Humidade (%)	87,0	88,5
Gordura total (%)	0,00	0,00
Cinza total (%)	0,26	0,43
Açúcares totais (%)	12,14	10,27
Açúcares redutores (%)	4,20	5,80
Sacarose (%)	7,94	4,47
Fibra (%)	0,63	0,81
Proteína (%)	0,00	0,00
Valor energético / kcal.100g ⁻¹	49	41
Valor energético / kJ.100g ⁻¹	204	172

Da Tabela 17, é possível verificar que ambas as polpas apresentam elevado teor de humidade, baixos teores lipídicos e proteicos, conferidos pelas matérias-primas que lhes deram origem. São por isso produtos de baixo teor calórico. Os açúcares totais, principalmente a sacarose, são responsáveis pelo sabor doce que lhes é característico.

CAPÍTULO III – CONCLUSÕES

No desenvolvimento da tecnologia de polpas de hortofrutícolas, consideraram-se duas formulações P_{Amarela} [Pêra Rocha (50%): Ananás (50%)] e P_{Vermelha} [Pêra Rocha (66%): Morango (30%) Beterraba (4%): Sumo de limão (1.5%)], para testar os efeitos de tratamentos de pasteurização - pelo calor e por irradiação UV-C e da armazenagem refrigerada (5 °C) na qualidade dos produtos.

Da caracterização físico-química, microbiológica e sensorial das polpas P_{Amarela} e P_{Vermelha} no pós processamento, concluiu-se que:

- Os principais factores responsáveis pela deterioração referem-se ao elevado potencial de desenvolvimento microbiano e à elevada susceptibilidade à oxidação enzimática manifestadas, respectivamente, através das determinações da contaminação inicial, com níveis de mesófilos superiores a 4 ciclos Log e, de actividade enzimática com níveis de actividade para a POD de 23 U/ml (P_{Amarela}) e de 7 U/ml (P_{Vermelha}).

Da primeira fase de optimização da pasteurização pelo calor, selecção das condições do binómio tempo – temperatura, para cada uma das formulações, conclui-se que:

- As condições de pasteurização optimizadas para as polpas mostraram ser dependentes das formulações testadas. Os binómios seleccionados para a P_{Amarela} e P_{Vermelha} foram de 95 °C durante 10 minutos e de 90 °C durante 10 minutos, respectivamente. Estas condições garantiram para ambas as situações a inactivação microbiana (diminuição superior a 2 ciclos Log) e enzimática da POD (inactivação próximo de 100%), significativas ($p < 0.05$), com manutenção das características sensoriais semelhantes às do produto não pasteurizado no pós processamento.

Da fase de avaliação da pasteurização por radiação UV-C na formulação P_{Vermelha}, conclui-se que:

- Na gama de intensidades testadas, a variar de 0,5 a 16 kJ/m², não se verificaram qualquer dos efeitos esperados tanto de descontaminação microbiana como de inactivação enzimática (POD). Uma das razões que poderá justificar estes resultados centra-se na baixa capacidade de penetração da radiação UV-C neste tipo de produto.

Na validação dos efeitos de pasteurização pelo calor (condições otimizadas) e da armazenagem (30 dias, 5 °C), na qualidade das polpas P_{_Amarela} e P_{_Vermelha}, conclui-se:

- Ausência de efeito da pasteurização das polpas, imediatamente após processamento (dia 0), na alteração dos atributos da qualidade, teor em sólidos solúveis, pH, índice de consistência, compostos fenólicos totais e cor das polpas, independentemente tipo de formulação.
- Ausência de efeito da armazenagem das polpas, durante o período de 30 dias, na alteração dos atributos pH, TSS e índice de consistência das polpas, independentemente tipo de formulação.
- A verificação dos efeitos da armazenagem e da pasteurização no conteúdo fenólico total das polpas foi distinto em função do tipo de formulação. A P_{_Amarela} pasteurizada apresentou uma tendência de aumento no teor fenólico total com a armazenagem enquanto na condição não pasteurizada se caracterizou a tendência contrária. A interação dos efeitos resultou em diferenças ($p < 0.05$) entre ambas, de 50 mg EAC.100g⁻¹ a partir do 15º dia. Na P_{_Vermelha} verificou-se a queda ($p < 0.05$) nos valores do teor fenólico total até ao 7º dia (cerca de metade) sem variações adicionais na posterior armazenagem, independentemente do efeito da pasteurização.
- Os efeitos da armazenagem não influenciaram os níveis de aceitação sensorial das polpas pasteurizadas durante o período total ensaiado.
- O período de vida útil estimado dos produtos armazenados em refrigeração (5 °C) é de, no mínimo 30 dias, tendo em conta o cumprimento simultâneo dos critérios pretendidos, diminuição da carga microbiológica, inibição da actividade enzimática e manutenção das características composicionais e sensoriais das polpas.

A validação das condições otimizadas de pasteurização térmica, em resultado da modelização (RSM) de vários atributos da qualidade, para as polpas P_{_Amarela} e P_{_Vermelha}, constitui um passo importante na implementação da tecnologia de polpas de HF sem recurso à adição de químicos de síntese. Para tal deverão ser considerados ainda testes de verificação à escala industrial bem como testes de avaliação da qualidade destas polpas refrigeradas para além de 30 dias.

BIBLIOGRAFIA

- Abreu, M., Beirão-da-Costa, S., Gonçalves, E.M., Beirão-da-Costa, M.L., & Moldão-Martins M. (2003). Use of mild heat pre-treatments for quality retention of fresh-cut 'Rocha' pear. *Postharvest Biology and Technology*, 30: 153-160.
- Ahmed, J., Shivhare, U.S., Sandhu, K.S. (2002). Thermal Degradation Kinetics of Carotenoids and Visual Color of Papaya Puree. *Journal of Food Science*, 67:2692-2695.
- Alegria, C., Pinheiro, J., Duthoit, M., Gonçalves, E.M, Moldão-Martins, M., & Abreu, M. (2012). Fresh-cut carrot (cv. Nantes) quality as affected by abiotic stress (heat shock and UV-C irradiation) pre-treatments. *LWT-Food Science and Technology*, 48(2): 197–203.
- Allende, A., McEvoy, J.L., Luo, Y., Artés, F., Wang, C.Y. (2006). Effectiveness of two-sided UV-C treatments in inhibiting natural microflora and extending the shelf-life of minimally processed "Red Oak Leaf Lettuce. *Food Microbiology*, 23: 241-249.
- Amaro, A.P., Bonilha P.R.M., Monteiro, M. (2002). The effect of the thermal treatment on the physicochemical and microbiological characteristics of the passion fruit pulp. *Alim. Nutr.* 13: 151-162.
- Arteaga, G.E., Li Chan, E., Vazquez Arteaga, M.C., Nakai, S. (1994). Systematic experimental designs for product formula optimization. *Trends in Food Science and Technology*, 5(8): 243–254.
- Bastos, C.T.R.M., Ladeira, T.M.S., Rogez, H., Pena, R.S. (2006). Study of the efficiency of the pasteurization of pulp of taperebá (*Spondias mombin*). *Alim. Nutr.* 19(2): 123-131.
- Bifani, V., Inostroza, J., Cabezas, M.J., Ihl, M. (2002). Determinación de parámetros cinéticos de peroxidase y clorofila a en judías verdes (*Phaseolus vulgaris* cv. Win) y estabilidad del producto congelado. *Revista Afinidad de Enero – Tomo LIX.*, 497: 57-64 ISI.
- Bolin, H.R, Huxsoll, C.C. (1991). Control of minimally processed carrot (*Daucus carota*) surface discoloration caused by abrasion peeling. *Journal of Food Science*, 56 (2): 416-418.
- Brunini, M.A., Durigan, J.F., Oliveira, A.L. (2002). Avaliação das alterações em polpa de manga "Tommy-Atkins" congeladas. *Rev Bras. Frutic.*, 24(3): 651-653.
- Campos, L.S. (2005). Entender a Bioquímica. 4ª Edição. Escola editora. Lisboa.
- Cardoso, A.S. (2003). Corantes e pigmentos. In: catro, A.G. (ed) A química e reologia no processamento dos alimentos. Instituto Piaget. Lisboa. pp 239-262.
- Cherry, J.P. (1999). Improving the safety of fresh produce with antimicrobials. *Food Technology*, 53(11): 54-59.

- Coxam, V., Delzeme, N., Roberfroid, M. (2008). *Aliments fonctionnels*. 2.^a. Paris: Lavoisier.
- Crumière, F. (2000). Inhibition of enzymatic browning in food products using bio-ingredients. *Department of Food Science and Agricultural Chemistry, McGill University, Montreal*.
- Dal Ri, E.S. (2006). Avaliação do Processo Produtivo e da Qualidade de Polpas de Frutas Comercializadas em Boa Vista. Dissertação para obtenção do grau de mestre em Recursos Naturais – Bioprospecção. Universidade Federal de Roraima. Boa Vista. pp. 166.
- Decreto-lei 230/2003 de 27 de Setembro. Doces e geleias de frutos, citrinadas e creme de castanha destinada à alimentação humana. (Diário da República I Série A, de 27 de Setembro de 2003). pp. 6323 – 6327.
- Dillar, C., German, B. (2000). Phytochemicals: nutraceuticals and human health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 1744-1756.
- Diplock, A.T. (1994). Antioxidants and disease prevention. *Molecular Aspects of Medicine*. Nº 15, pp. 293-376.
- Drlange (1994). Colour review. Drlange Application Report No. 8.0e.USA.
- EN – ISO 6865 de 2000. Animal Feeding Stuffs - Determination Of Crude Fibre Content - Method With Intermediate Filtration.
- Erkan, M., Wang, S.Y., Wang, C.Y (2008). Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and decay in strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 48: 163-171.
- Falguera. V., Pagán, J., Garza, S., Garvín, A., Ibarz, A. (2011). Ultraviolet processing of liquid food: a review. *Food Research International*, 44: 1580–1588.
- Faraoni, A.S. (2006). Efeito do tratamento térmico, do congelamento e da embalagem sobre o armazenamento da polpa de manga orgânica: Tese para a obtenção do grau de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Viçosa.
- Fellows, P. (2000). *Food Processing: Principles and Practice*. 2nd edition Woodhead Publishing Limited, Cambridge.
- Francis, G.A., Thomas, C., O'Beirne, D. (1999). The microbiological safety of minimally processed vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*, 34: 1-22.
- Freitas, A.C, Figueiredo, P. (2000). *Conservação dos alimentos*. Lisboa
- Garcia, E., Barrett, D.M. (2002). Preservative treatments for fresh-cut fruits and vegetables. In: LAMIKANRA, O. (Ed.). *Fresh cut fruits and vegetables: Science, Technology and Market*. USA: CRC Press, 268-297.

- Gardner, D.W.M., Shama, G. (2000). Modeling UV-induced inactivation of microorganisms on surfaces. *Journal of Food Protection*. 63: 63-70.
- González-Aguilar, G.A., Zavaleta-Garica, R., Tiznado-Hernández, M-E. (2001). Improving postharvest quality of mango “Haden” by UV-C treatment. *Postharvest Biology and Technology*, 45: 108-116.
- Guerrero-Beltrán, J.A., Barbosa-Cánovas G.V. (2005). Reduction of *saccharomyces cerevisiae*, *escherichia coli* and *listeria innocua* in apple juice by ultraviolet light. *Journal of Food Engineering Process*, 28: 437-452.
- Guerzoni, E., Marchetti, R. (1987). Analysis of Yeast Flora Associated with Grape Sour Rot and of the Chemical Disease Markers. *Applied and Environmental Microbiology*, 53(3): 571-576. Cit in: Nguyen-The, C., Carlin, F. (1994). The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34: 371-401.
- Hagenmaier, R.D., Baker, R.A. (1998). Microbial population of shredded carrot in modified atmosphere packaging as related to irradiation treatment. *Journal of Food Science*, 63(1): 162-164.
- Instrução Normativa nº1 de 7 de Janeiro de 2000. Regulamento Técnico Geral para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Polpa de Fruta (7 de Janeiro de 2000). Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Brasil. pp. 21.
- Keyser, M., Müller, I.A., Cilliers, F.P., Nel, W., Gouws, P.A. (2008). Ultraviolet radiation as non-thermal treatment for inactivation of microorganisms in fruit juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9: 348–354.
- King, A.D., Magnuson, J.A., Torok, T., Goodman, N. (1991). Microflora and storage quality of partially processed lettuce. *Journal of Food Science*, 56: 459-461.
- Koek, P.C., De Witte, Y., De Maaker, J. (1983). The microbial ecology of prepared raw vegetables. In: *Food Microbiology Advances and Prospects*. T.A. Roberts, F.A. Skinner (eds.), pp 221-242. Academic Press, London.
- Koutchma, T. (2009). Advances in ultraviolet light technology for non-thermal processing of liquid foods. *Food and Bioprocess Technology*, 2 (2): 138-155.
- Lado, B.H., Yousef, A.E. (2002) Alternative food-preservation technologies: efficacy and mechanisms *Microbes and Infection*, 4:433–440.
- Laurente, C., Clemente, E. (2005). Avaliação da atividade da peroxidase em carambola (*Oxalidacia avertrhoa*) em diferentes estádios de maturação. *Acta Scientiarum*, 27: 159-163.
- Lima, R.M.T. (2010). Avaliação da estabilidade química, físico-química e microbiológica de polpas de acerola orgânica pasteurizada e não-pasteurizada. Tese

para a obtenção do grau de mestre em ciências e tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

- Lindley, M.G. (1998). The impact of food processing on antioxidants in vegetables oils, fruits and vegetables: a review *Trends in Food Science & Technology*, 9:336-340.
- Liu, J., Stevens, C., Khan, V.A., Lu, J.Y., Wilson, C.L., Adeyeye, O., Kabwe, M.K., Pusey, P.L., Chalutz, E., Sultana, T., Droby, S. (1993). Application of ultraviolet-C light on storage rots and ripening of tomatoes. *Journal of Food Protection*, 56: 868-872.
- López-Malo, A., Palou, E. (2005). Ultraviolet light and food preservation. In: Barbosa-Cánovas, G., Tapia, M.S., Cano, M.P. *Novel food processing technologies*. New York: CRC, Chap. 18.
- Lund, B.M. (1992). Ecosystems in vegetable foods. *Journal of Applied Microbiology*, 73 (Suppl.), 115-119.
- Manzocco L., Pieve, S., Bertolini, A., Bartolomeoli, I., Maifreni, M., Vianello, A., Nicoli, M.C. (2011). Surface decontamination of fresh-cut apple by UV-C light exposure: Effects on structure, colour and sensory properties. *Postharvest Biology and Technology*, 6: 165-171.
- Marchetti, R., Casadei, M.A., Guerzoni, M.E. (1992). Microbial population dynamics in ready-to-use vegetable salads. *Italian Journal of Food Science*, 2: 97-108.
- Marshall, M. R.; Kim,J.; Wei, C. (2000) Enzymatic browning in fruits, vegetables and seafoods.FAO,.Disponível em: <http://www.fao.org/ag/ags/agsi/enzymefinal/enzymatic%20browning.htm>>. Acesso em: 11 Set 2012.
- Martinez, M.V.; Whitaker, J.R. (1995). The biochemistry and control of enzymatic browning. *Trends Food Sci.Technol.*, 6:195-200.
- Martins, M.L.L. (1991). Inativação da Peroxidase em Produtos Vegetais. Trabalho de síntese apresentado para provas de acesso à categoria de Assistente de Investigação no Laboratório Nacional de Engenharia e Tecnologia Industrial (LNETI).
- Monteiro, M., Amaro, A.P., Bonilha, P.R.M. (2005). Avaliação Físico-química e microbiológica da polpa de maracujá processada e armazenada sob refrigeração. *Alim. Nutr.*, 16(2):71-76.
- Montgomery, D.C. (1991). Design and analysis of experiments. 3rd Edition, John Wiley and Sons, New York.
- Morgan, R. (1989). UV “green” light disinfection. *Dairy Industries International*, 54 (11): 33-35.

- Mororó, R. C. (2000) Como montar uma pequena fábrica de polpas de frutas. 2ª Edição. Viçosa: Centro de Produções Técnicas. Brasil. pp. 84.
- Nguyen-The, C., Carlin, F. (1994). The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34: 371-401.
- Norma EN ISO 4833: 2003. “Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of microorganisms - Colony-count technique at 30°C”.
- Norma ISO 8586-1: 1993. Sensory analysis – General guidance for the selection, training and monitoring of assessors. Part1: selected assessors.
- NP (Norma Portuguesa) 1419 de 1987. Frutos, produtos hortícolas e seus derivados. Determinação de açúcares totais, dos açúcares redutores e dos açúcares não redutores (sacarose). Técnica de Munson e Walker. Método de referência.
- NP (Norma Portuguesa) 1612 de 2006. Carnes, derivados e produtos cárneos. Determinação do teor de azoto total. Método de referência.
- NP (Norma Portuguesa) 1613 de 1979. Carnes, derivados e produtos cárneos. Determinação de matéria gorda total. Método de referência.
- NP (Norma Portuguesa) 1614 de 2009. Carnes, derivados e produtos cárneos. Determinação do teor de humidade. Método de referência.
- NP (Norma Portuguesa) 1615 de 2002. Carnes, derivados e produtos cárneos. Determinação da cinza total. Método de referência.
- Ohlsson, T. (2002). Minimal processing of foods with no-thermal methods. In: Ohlsson, t., Bengtsson, N. *Minimal processing Technologies in food industry*. CRC Press, Boca Raton/London/New York/Washington DC. Pp 34-60.
- Oliveira, E. A., Borges S. V., Furtado Â. A. L., Modesta R. C. D., Godoy, R. O. (2011) *Tratamento térmico (HTST) de polpa de umbu (Spondias tuberosa Arruda Câmara)*. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 31 (4): 923-928.
- Pereira, P.S., Rousseau, J.A. (2000). Estudos do Consumidor. Sociedade portuguesa de inovação, S.A, Porto.
- Pilon, L. (2003). Estabelecimento da vida útil de hortaliças minimamente processadas sob atmosfera modificada e refrigeração. Dissertação para o título de Mestre em ciência e tecnologia dos alimentos. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. São Paulo. Brasil.
- Rawson, A., Patras A., Tiwari, B.K., Noci F., Koutchma T., Brunton, N. (2001). Effect of thermal and non thermal processing technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products: Review of recent advances. *Food Research International*, 44 1875–1887.

- Resolução - CNNPA nº12, de 1978. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (24 de Julho de 1978). *Polpas de Fruta*. Brasil. pp. 75.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G. (1997). Antioxidant proprieties of phenolic compounds: a review. *Trends in plants science*, 2: 152-159.
- Rodriguez-Amaya, D.B. (1997). Carotenoids and Food Preparation: The Retention of Provitamin A Carotenoids in Prepared, Processed, and Stores Foods. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, pp. 93.
- Roman, J.A. (2010). Tecnologia de Alimentos I: Princípios de conservação de alimentos. Disponível em: <http://www.scribd.com/doc/28670220/Tecnologia-de-Alimentos-000>: Acesso em 10 Set. 2012.
- Rosa, O.O. (2002). Microbiota associada a produtos hortícolas minimamente processados comercializados em supermercados. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Lavras. Lavras, Minas Gerais, Brasil. 120 pp.
- Santos, C.A.A., Coelho, A.F.S, Carreiro, S.C. (2008) Avaliação microbiológica de polpas de frutas congeladas. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 28(4): 913-915.
- Santos, I.R.C. (2009). Escurecimento enzimático em frutos: polifenoloxidasas de atemóia. Tese de obtenção do grau de mestre em Alimentos e Nutrição. Universidade estadual paulista “Júlio De Mesquita Filho”. Araraquara.
- Sastry, S.K., Datta A.K., Worobo R.W. (2001). Ultraviolet Light. *Journal of Food Science, Supplement*. Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing Technologies: 90-92.
- Sebastiany, E. (2006). Avaliação do processo produtivo e da qualidade de polpas de frutas comercializadas em Boa vista/RR. Dissertação para obtenção do grau de mestre em Recursos Naturais. Universidade Federal de Roraima. Boa Vista.
- Selma, M.V., Allende, A., López-Gálvez, F., Conesa, M.A., Gil, M.I. (2008). Disinfection potencial of ozone ultraviolet-C and their combination in wash water for the water for the fresh-cut vegetable industry. *Food Microbiology*, 25: 809-814.
- Shama, G., Alderson, P. (2005). UV hormesis in fruits: a concept ripe for commercialization. *Trends in Food Science Technology*, 16: 128-136.
- Smith, P.G. (2011). Introduction to food process engineering. 2nd Edition, Springer Science+Business Media, New York.
- Stahl, W., Sies, H. (2005). Bioactivity and protective effects of natural carotenoides: a review. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1740: 101-107.
- StatSoft, Inc. (2007). STATISTICA (data analysis software system), version 8.0. Tulsa, USA. www.statsoft.com.

- Sugai, A. Y., Tadini, C.C. (2006). Thermal inactivation of mango (*Mangifera indica* L., variety Palmer) puree peroxidase. *Section VI International Symposium on Future of food engineering*. 26-28
- Swain, T. e Hillis, W.E. (1959). The phenolic constituents of *Prunus domestica* 1. The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 10:63-68.
- Tomás-Barberán, F.A., Espín, J.C. (2001) Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81: 853-876.
- Tran, T. T. M., & Farid, M. M. (2004). Ultraviolet treatment of orange juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5: 495–502.
- Umme, A., Bambang, S.S., Salmah, Y., Jamilah, B. (2001). Effect of pasteurisation on sensory quality of natural soursop puree under diferente storage conditions. *Food Chemistry* 75:293-301.
-

Anexo 1 – Ficha de prova de Análise Sensorial utilizada no ponto

Prova Sensorial

NOME :

Caro Provador, recebeu _ amostras de polpa codificadas. Por favor, observe, cheire e prove as amostras.

Ordene as amostras em ordem crescente em relação aos parâmetros:

COR.

Pior cor

Melhor cor

Sabor.

Pior sabor

Melhor sabor

Cheiro.

Pior aroma

Melhor aroma

COMENTÁRIOS :

Data: _____

Anexo 2 – Resultados do ensaio de optimização do Binómio T/t (ponto 5.1)

Tabela A1– Valores médios (\pm DP) de TSS, pH e CFT nas amostras de P_{Am} e P_{Verm_NP}

Id polpa não pasteurizada	TCD	pH	TSS	CFT	POD	Micro 30 °C
P _{Am_NP}	0	4,0 \pm 0,02	11.2 \pm 0.3	94.8 \pm 9.4	22.5 \pm 0.6	4.38 \pm 0.5
P _{Verm_NP}	0	3.8 \pm 0,02	10.1 \pm 0.1	154.9 \pm 11.4	6.6 \pm 0.3	4.32 \pm 0.5

Nota: Os valores correspondem às médias (\pm desvio padrão) de 3 replicados por amostra.

Tabela A2 – Análise de Variância dos parâmetros TCD, redução da actividade da enzima peroxidase e contagem de microrganismos a 30 °C para polpa P_{Am} e P_{Verm}

Id polpa	Atributos	Coeficientes do modelo						Fonte de variação		
			T (L)	T (Q)	t (L)	t (Q)	T x t	Lack of fit	Pure Error	Total SS
P _{Am}	TCD	SS	0.533	0.486	5.375	17.987	2.910	62.503	13.847	55.096
		df	1	1	1	1	1	3	3	5
		MS	0.533	0.486	5.375	17.987	2.910	20.834	4.616	11.019
		p	0.845	0.852	0.540	0.279	0.649	0.124	0.252	
	Redução POD	SS	921.327	808.302	759.303			491.219	336.171	4184.789
		df	1	1	1			5	3	3
		MS	921.327	808.302	759.303			98.244	112.057	1394.930
		p	0,017	0,023	0,027			0.583	0,034	
	CM 30 °C	SS	4.321	0,032				1.991	3.720	6.287
		df	1	1				6	3	2
		MS	4.321	4.096				0.332	1.240	3.144
		p	0,028	0,032				0.920	0.227	
P _{Verm}	TCD	SS			26.606		30.878	3.835	1.953	37.160
		df			1		1	6	3	2
		MS			26.606		30.878	0.639	0.651	18.580
		p			0,000		0,000	0.552	0,011	
	Redução POD	SS	3145.143	2729.810	353.688	8.509	361.927	596.374	0.178	8038.124
		df	1	1	1	1	1	3	3	5
		MS	3145.143	2729.810	353.688	8.509	361.927	198.7913	0,059	1607.625
		p	0,001	0,002	0.108	0.780	0.105	0,000009	0,000	
	CM 30 °C	SS	8.546					2.328	1.648	8.546
		df	1					7	3	1
		MS	8.546					0.333	0.549	8.546
		p	0,001					0.737	0,029	

Tabela A3 -Valores médios (\pm DP) de pH, TSS e CFT relativos às condições definidas no delineamento CCR nas amostras P_{Am} e P_{Verm}

Delineamento CCR		P _{Am}			P _{Verm}		
Temperatura (°C)	Tempo (min:s)	pH	TSS	CFT	pH	TSS	CFT
85	6:45	4.08 \pm 0,02	11.13 \pm 0.42	101.6 \pm 12.6	3.8 \pm 0,04	10.4 \pm 0,0	153.0 \pm 31.2
92	2:19	4.08 \pm 0,00	11.53 \pm 0.57	102.9 \pm 22.2	3.9 \pm 0,0	10.2 \pm 0.2	138.2 \pm 23.1
78	11:10	4.07 \pm 0,00	11.03 \pm 0.85	108.7 \pm 9.4	3.9 \pm 0,01	10.3 \pm 0,06	152.3 \pm 22.0
92	11:10	3.97 \pm 0,01	12.00 \pm 0.17	102.5 \pm 14.5	3.7 \pm 0,04	10.1 \pm 0.1	148.1 \pm 10.7
85	6:45	4.05 \pm 0,02	12.23 \pm 0.38	115.2 \pm 12.1	3.8 \pm 0,04	10.2 \pm 0.1	160.6 \pm 22.2
78	2:19	3.85 \pm 0,01	12.67 \pm 0.51	105.3 \pm 5.2	3.9 \pm 0,05	10.2 \pm 0.2	145.2 \pm 8.3
85	6:45	3.81 \pm 0,02	12.83 \pm 0.51	124.0 \pm 15.9	3.7 \pm 0,02	10.1 \pm 0.1	149.7 \pm 5.8
85	13:0	3.72 \pm 0,02	13.10 \pm 0.10	109.7 \pm 13.9	3.7 \pm 0,01	10.4 \pm 0.1	156.1 \pm 19.6
75	6:45	3.98 \pm 0,01	11.47 \pm 0.12	107.9 \pm 8.1	3.8 \pm 0,01	10.1 \pm 0.1	150.1 \pm 3.4
95	6:45	3.79 \pm 0,02	12.10 \pm 0.10	104.3 \pm 15.4	3.8 \pm 0,02	9.9 \pm 0.1	147.0 \pm 10.7
85	0:30	3.89 \pm 0,01	12.00 \pm 0.17	100.3 \pm 14.7	3.7 \pm 0,0	9.6 \pm 0.3	150,0 \pm 9.7
85	6:45	3.94 \pm 0,02	12.10 \pm 0.10	104.1 \pm 9.6	3.8 \pm 0,01	9.8 \pm 0,06	151.5 \pm 21.8

Nota: Os valores correspondem às médias (\pm desvio padrão) de 3 replicados por amostra.